



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
Faculdade de Agronomia e Veterinária - FAV

**ESTUDOS FITOPATOLÓGICOS PRELIMINARES EM ALGUMAS
PLANTAS COMERCIALMENTE EXPLORADAS AO CULTIVO NO
BRASIL**

GILMA ROSA DO NASCIMENTO

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências para obtenção do título de Engenheira Agrônoma

Orientadora: Professora Doutora Rita de Cássia Pereira Carvalho

BRASÍLIA, DF
DEZEMBRO, 2013

Projeto final de estágio supervisionado submetido à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB) como requisito parcial para obtenção do grau de Engenheira Agrônoma.

Discente: Gilma Rosa do Nascimento

Matricula: 10250/74

Banca Examinadora

Orientadora: Professora Doutora Rita de Cássia Pereira Carvalho
Engenheira Agrônoma (IB/UnB)

Co-orientador: Professor Doutor Everaldo Anastácio Pereira
Engenheiro Agrônomo (FAV/UnB)

Membro externo: Professora Doutora Adelaida Pallavancini
Engenheira de Transportes (FT/UnB)

Membro interno: Professor Doutor Francisco Faggion
Engenheiro Agrônomo

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter se colocado ao meu lado, por toda a minha vida.

À minha Mãe: Dorma Maria
Só exemplo de conduta, moral e ética.

Às minhas irmãs; Gircélia e Gilda Rosa
Por todo o amor e confiança, renovados a todo instante, em todos os momentos.

À Professora Doutora Rita de Cássia
A minha gratidão especial, por tantos ensinamentos, todo o apoio, até nos momentos mais difíceis, passando toda a sua força, confiança e certeza, se mantendo sempre presente. Por tanta conduta ética e total diplomacia.

Ao Professor Doutor Everaldo;
Meu mestre, e melhor amigo, sempre ao meu lado, em favor da pesquisa, incentivando e apoiando o meu crescimento acadêmico.

Às companheiras; Zuleide Chaves, Mariza Sanches;
Por sempre me disponibilizarem seus conhecimentos.

Aos irmãos
Companheiros dos caminhos, que mesmo distante estamos unidos em plena ternura.

À minha grande amiga Regina Borges, que teve muita contribuição para que tudo acontecesse.

À minha querida amiga Patrícia, que muito contribuiu para que tudo desse certo.

Aos professores,
Que por muitas vezes ultrapassam os limites acadêmicos, e se tornam amigos e maiores incentivadores.

Aos colegas
Passamos tanto tempo juntos, dividimos experiências, espero revê-los, a todos.

Aos funcionários da EEB;
Agradeço a todos, por tudo!

Póstumas;
À minha querida irmã de coração, Sumeire Aparecida, sem a qual esse momento não haveria acontecido, ela nunca me deixou desistir.

Aos examinadores da banca;
Agradeço a atenção e a presença.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	Erro! Indicador não definido.
CAPITULO 1.....	1
1. Introdução.....	1
2. Objetivo.....	2
3. Caracterização dos principais vírus que afetam a agricultura no Brasil.....	2
3.1. Gênero <i>Tospovirus</i>	2
3.2. Gênero <i>Potyvirus</i>	3
3.3. Gênero <i>Begomovirus</i>	4
4. Caracterização das culturas introduzidas no círculo comercial e alimentar.....	6
4.1. Trigo sarraceno (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	7
4.2. Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>)	8
4.3. Feijão jacinto (<i>Lablab purpureus</i>).....	9
4.4. Soja preta (<i>Glycine max</i>).....	10
4.5. Chia (<i>Salvia hispanica</i>).....	11
4.6. Linhaça (<i>Linum usitatissimum</i>).....	12
4.7. Grão de bico (<i>Cicer arietinum</i>)	14
4.8. Lentilha (<i>Lens culinaris</i>).....	15
5. CAPÍTULO 2-Avaliação das espécies selecionadas como possíveis hospedeiras de <i>Potato Virus Y</i> (PVY), <i>Groundnut ringspot virus</i> (GRSV) e <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> (ToCMoV).....	16
5.1. Aspectos gerais	17
5.1.1. Método do processo de inoculação mecânica - <i>Groundnut ringspot virus</i> - GRSV e <i>Potato virus Y</i> - PVY.....	18
5.1.2. Método do processo de inoculação de <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> (ToCMoV) via vetor <i>Bemisia tabaci</i>	21
5.1.3. Método do processo de avaliação Avaliação e detecção de <i>Tomato chlorotic mottle virus</i> (ToCMoV) via hibridização de ácido nucléico	223
5.2. Contagem de ovos, ninfas e adultos de <i>Bemisia tabaci</i>	Erro! Indicador não definido.
5.3. Dot-Elisa: GRSV e PVY	23

5.4. Resultados e discussão.....	26
5.4.1. Gênero <i>Potyvirus</i>	26
5.4.2. Gênero <i>Tospovirus</i>	26
5.4.3. Gênero <i>Begomovirus</i>	26
5.5. Conclusões	28
6. CAPÍTULO 2 -Detecção de <i>Plasmodiophora brassicae</i> e <i>Alternaria brassicicola</i> em Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>	30
6.1. Aspectos Gerais.....	30
6.2. Metodologia	34
6.3. Resultado e Discussão	34
6.3.1. Identificação de <i>Alternaria brassica</i> em <i>Crambe abyssinica</i>	35
6.3.2. Identificação de <i>Plasmodiophora brassicicola</i> em <i>Crambe abyssinica</i>	36
6.4. Resultado e Discussão.....	37
6.5. Conclusão.....	38.
7. CONCLUSÕES FINAIS.....	38
Anexos.....	47

RESUMO

Patógenos de plantas distribuídos nos diferentes grandes grupos: nematóides, vírus, fungos e bactérias são importantes por ocasionarem perdas na agricultura. Os fungos destacam-se pela importância em porcentagem no número total de doenças de plantas, enquanto os vírus destacam-se principalmente devido à natureza do parasitismo o que dificulta o controle. Determinar potenciais hospedeiras de espécies virais é extremamente importante, pois espécies recém-introduzidas ao cultivo na agricultura podem consistir em importantes fontes de inóculo. Neste contexto este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar do ponto de vista fitopatológico o papel de algumas culturas que vem crescendo em importância no cultivo comercial quanto ao potencial como hospedeiras de importantes vírus. As espécies avaliadas foram crambe (*Crambe abyssinica*); trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*); linhaça (*Linum usitatissimum*); grão de bico (*Cicer aritnum*); chia (*Salvia hispanica*); lentilha (*Lens culinaris*); feijão hyacinth (*Lablab purpureus*) e soja preta (*Glicine max*), através de repetidas inoculações das espécies *Groundnut ringspot virus* (GRSV, gênero *Tospovirus*), *Potato virus Y* (PVY, gênero *Potyvirus*) via inoculação mecânica e *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV, gênero *Begomovirus*) via vetor virulífero *Bemisia tabaci*. As avaliações para vírus foram feitas mediante sintomas e detecção viral via DOT-BLOT para PVY e GRSV e através de hibridização de ácidos nucleicos para ToCMoV. A avaliação para o vetor foi feita por contagem de ovos, ninfas e adultos. Para PVY nenhuma das espécies testadas apresentou resultado positivo. Para GRSV, trigo sarraceno, feijão jacinto, soja preta, lentilha e grão de bico apresentaram resultados positivos em Dot-Blot evidenciando que estas espécies constituem potencial hospedeiras de vírus no campo. Para ToCMoV, amostras de trigo sarraceno e feijão preto foram positivas embora o controle não tenha reagido adequadamente. Um segundo objetivo deste trabalho foi identificar patógenos de crambe. Esta espécie vem se destacando como uma importante fonte a ser usada como matéria-prima na produção de biodisel. Neste trabalho realizou-se a detecção de *Alternaria brassicicola* e *Plasmodiophora brassicae* consistindo estes dois casos em primeiro relato destes patógenos em crambe no Distrito Federal.

Palavras-chaves: fungos, vírus, crambe

1. INTRODUÇÃO

Produzir no Brasil demanda muita tecnologia. A regra geral, com algumas exceções, é que, as tecnologias e as pesquisas alavancam a produção, bem como contribuem com o aumento da importância de pragas e doenças antes consideradas como secundárias.

Um dos principais fatores limitantes na equação de produção refere-se ao aspecto fitossanitário onde a grande maioria das culturas pode ser afetada por patógenos. Dentre estas culturas destaca-se o tomateiro (*Solanum lycopersicum* = *Lycopersicon esculentum*), uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil e no mundo.

Fungos, nematoides, vírus e bactérias correspondem aos grandes grupos de patógenos que acometem diversas culturas e acarretam perdas inestimáveis quando não controlados. Destaca-se dentre estes grupos os fungos e os vírus. Estima-se que 75 a 80% das doenças de plantas sejam causadas por fungos, e em menor porcentagem por vírus. Entretanto a importância destes patógenos é imensa, tendo em vista principalmente a natureza do parasitismo deste grupo de organismos, que obrigatoriamente faz com que as medidas de controle adotadas sejam em sua maioria preventivas.

Varias espécies de vírus são transmitidas na natureza principalmente por vetores, mas também podem ser transmitidas via inoculações mecânicas, sementes, pólen, cuscuteira, dentre outras. Um importante vetor de vírus de planta é o aleirodóide popularmente conhecido como mosca-branca (*Bemisia tabaci*) (JONES et al., 2005; PEREIRA-CARVALHO, 2009).

Assim, torna-se imprescindível destacar a importância de pesquisas e uma correta diagnose do patógeno. Neste contexto o levantamento do agente causal é de extrema importância para conhecimento das diferentes espécies de patógenos nas varias culturas, bem como a avaliação destas plantas como potenciais hospedeiras de patógenos (neste caso especificamente fungos e vírus).

Muitas pesquisas focadas em hortaliças, fruteiras e grandes culturas, tem conseguido identificar vários destes patógenos, entretanto para espécies já introduzidas ao cultivo comercial os estudos são incipientes e em alguns casos inexistentes. Dentre

esses cultivos tem-se o trigo sarraceno (*Fagopirum esculentum*), crambe (*Crambe abyssinica*) o feijão jacinto (*Lablab purpureus*) a soja preta (*Glycine max*), a chia (*Salvia hispanica*), a linhaça (*Linum usitatissimum*), o grão-de-bico (*Cicer arietinum*), a lentilha (*Lens culinaris*).

A introdução destas culturas abre perspectivas de seu uso como fontes substitutas a vários produtos na agricultura, tornando-se necessário o conhecimento dos diferentes tipos de patógenos para os quais estas culturas mostram-se suscetíveis e assim a importancia de aquisição de informações sobre o potencial destas espécies como hospedeiras de patógenos importantes, tendo em vista que no campo as mesmas podem funcionar como boas fontes de inóculo.

2. OBJETIVO

Avaliar o potencial das espécies de trigo serraceno, crambe, feijão jacinto, soja preta, chia, linhaça, grão-de-bico e lentilha frente a três espécies virais classificadas em três gêneros distintos, *Tospovirus*, *Potyvirus* e *Begomovirus* que são importantes para o cultivo de tomate no Brasil, além disso estudar alguns patógenos em crambe. Foram relatados: *Alternaria brassicicola* e *Plasmodiophora brassica*.

3. CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS VÍRUS QUE AFETAM A AGRICULTURA NO BRASIL

3.1. Gênero *Tospovirus*

Espécies classificadas no gênero *Tospovirus* (família *Bunyaviridae*), são conhecidas popularmente como espécies causadoras de mancha anelar do amendoim, vira-cabeça do fumo e vira-cabeça do tomateiro. As principais espécies são: *Grondnut ringpost virus* (GRSV) e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV).

Espécies classificadas no gênero apresentam RNA negativo e três RNAs (denominados L, M e S).

A transmissão destas espécies é realizada principalmente pelos vetores conhecidos como tripes (gêneros *Frankliniella* e *Trips*), sendo as espécies mais comuns: *Frankliniella occidentalis* e *Frankliniella schultzei* (GIBBS; OHSHIMA, 2010).

A relação estabelecida entre vírus e vetores é do tipo circulativa propagativa, o que significa que o vírus se replica no vetor (FARIA; ZERBINI, 2000; TIMMERMANS; DAS; MESSING, 1994). O vírus é adquirido na fase larval. A infecção com o vírus resulta em manchas e murcha da planta, produção vegetativa reduzida, e eventualmente morte (AGRIOS, 1997).

Há um número grande de culturas conhecidas por serem hospedeiras de espécies do gênero de *Tospovirus*. Dentre elas cita-se além do tomate, amendoins, melancias pimentas, tomates; além de espécies ornamentais como: copo-de-leite, crisântemos e íris (BROWN et al., 1995; BERRY et al., 2004).

Os principais sintomas consistem em lesões necróticas nas folhas e necrose das nervuras e da região apical, principalmente em Datura (*Datura estramonium*), mosaico, deformação foliar e/ou necrose das nervuras e ápice das plantas. Em tomates os principais sintomas são bronzeamento, mosaico, manchas anelares em folhas e necrose no caule (SANTOS et al., 2004; STENGER et al., 1994).

Alguns sintomas de infecção por GRSV são difíceis de diagnosticar. Em plantas infetadas jovens, os sintomas característicos são encontrados nas folhas, pois ocorre o bronzeamento, seguido por manchas escuras. Assim, os sintomas progridem de murcha para infecção, a qual é caracterizada por manchas escuras no talo principal. Além destes sintomas, verifica-se também lesões necróticas no talo e tecidos da epiderme. A fruta pode ser deformada e ter um amadurecimento desigual (BROWN et al., 2011; PRATAP et al., 2011).

3.2. Gênero *Potyvirus*

Espécies de *Potyvirus* (família *Potyviridae*) apresentam partículas alongadas e flexuosas (680 – 900 nm x 11 a 15 nm). A espécie *Potato virus Y* (PVY) é considerada a

espécie tipo do gênero e é responsável por causar as doenças conhecidas como vírus da batata, risca do tomateiro e mosaico (GIBBS; OHSHIMA, 2010).

As espécies são transmitidas principalmente por vetores, inoculação mecânica e enxertia (SHUKLA, *et al.*, 1994). A relação estabelecida entre vírus e vetor é do tipo não circulativa não propagativa.

Os principais sintomas são branqueamento das nervuras das folhas novas, em seguida estas desenvolvem um mosqueado caracterizado por linhas verde-escuras ao longo das nervuras e um tecido verde-claro nas adjacências. As nervuras podem se tornar necróticas em plantas infectadas com as raças mais severas do PVY. (DOUGHERTY *et al.*, 1988). Quando as folhas baixas começam a ficar amareladas, as nervuras se tornam escuras, havendo a morte ou a queda das folhas. A infecção por este tipo de vírus também é caracterizada pela descoloração escura longitudinal no caule, que se estende do topo até a base da planta.

3.3. Gênero *Begomovirus*

Espécies de *Begomovirus* (família *Geminiviridae*) são responsáveis por uma grandes perdas econômicas para culturas importantes como: tomates, feijões, abóbora, mandioca e algodão (BROWN *et al.*, 2011).

A família *Geminiviridae* é considerada a mais numerosa dentre os vírus de planta e está representada atualmente por sete gêneros (*Becurtovirus*, *Eragrovirus*, *Turncurtovirus*, *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus* e *Begomovirus* (ICTV, 2013) classificados de acordo com a gama de hospedeiros, o tipo de vetor, a organização do genoma e o relacionamento filogenético (ADAMS; KING; CARSTENS, 2013; BROWN *et al.*, 2011; FAUQUET HEYDARNEJAD *et al.*, 2013). Os vírus desta família apresentam DNA circular de fita simples encapsidados em partículas geminadas de morfologia icosaédrica (18-20 x 30-32 nm). Os dois componentes são requeridos para que a infecção ocorra (FARIAS; ZERBINI, 2000; BRIDDON *et al.*, 1990; HOFER *et al.*, 1997; HANLEY-BOWDOIN *et al.*, 1999).

As espécies são transmitidas por diferentes biótipos da mosca-branca (*Bemisia tabaci*), porém sua rápida disseminação a partir da década de 1990 deve-se à introdução

do biótipo B, que com taxas maiores de reprodução e adaptação, é capaz de colonizar uma maior gama de hospedeiros (FAUQUET et al., 2008).

Várias espécies estão classificadas na família, dentre elas destaca-se a espécie-tipo: *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV), (BROWN et al., 2011). Plantas infectadas com ToCMoV geralmente desenvolvem sintomas de clorose internerval, manchas cloróticas e mosqueado amarelo.

O controle das begomoviroses se baseia geralmente na diminuição da população de *B. tabaci*, que demanda o uso de grandes volumes de inseticida, afetando diretamente o ecossistema e contribuindo para o desenvolvimento de resistência a pesticida nas populações de mosca-branca (ANDRADE et al., 2002). A maneira mais eficiente e com o menor custo para o controle de begomoviroses é o uso de plantas resistentes. Quando usadas com outros métodos de controle de pragas, podem garantir o sucesso da produção (GALVÃO et al., 2003; ROJAS et al., 2005).

4. CARACTERIZAÇÃO DAS CULTURAS INTRODUZIDAS NO CÍRCULO COMERCIAL E ALIMENTAR

As culturas aqui avaliadas, algumas estão sendo lentamente introduzidas ao círculo comercial e alimentar, e com cultivares adaptadas as condições edáficas do Cerrado brasileiro, que vem se destacando cada vez mais no cenário agrícola. São elas: trigo sarraceno (*Fagopirum esculentum*), crambe (*Crambe abyssinica*), feijão jacinto (*Hyacinth bean*); soja preta (*Glycine max*), chia (*Salvia hispanica*), linhaça (*Linum usitatissimum*), grão de bico (*Cicer arietinum*) e lentilha (*Lens Culinaris*).

Figura 1. Espécies avaliadas neste trabalho.



A) Trigo sarraceno (*Fagopirum esculentum*), B) Crambe (*Crambe abyssinica*), C) Hacinth bean (*Lablab purpurens*), D) Soja preta (*Glycine max*)
E) Chia (*Salvia Hispanica*), F) Linhaça (*Linum Usitatissimum*), G) Grão de Bico (*Cicer arrietnum*), H) Lentilha (*Lens Culinaris*)

4.1. TRIGO SARRACENO (*FAGOPYRUM ESCULENTUM*)

O trigo sarraceno, também conhecido por trigo mourisco e ainda trigo mouro, é uma planta da família *Polygonaceae* (**Figura 1**). De acordo com PEREIRA (Comunicação pessoal*). O grão é mais uma alternativa ao cardápio dos celíacos, ou seja, intolerantes ao glúten.

Esse pseudocereal, que na verdade não é um tipo de trigo, mas mais próximo da família do arroz, é nativo da Ásia Central, e chegou à Europa durante a Idade Média (SILVA, 2002). Planta anual, de caule ereto, herbáceo, ramificado, folhas alternas, sagitadas, com raiz principal ramificada. A inflorescência é reunida num feixe, com flores hermafroditas. O fruto é um aquênio trígono. Do ponto de vista botânico foram identificadas 58 variedades distribuídas em duas subespécies: vulgaris e multifolium (PACE, 1967). É uma planta que aprecia solos leves, medianamente ácidos, que são carentes de falta de ativação e metabolismo do elemento fósforo, portanto é muito indicada para a região do cerrado Brasileiro (ALBINO, 1983) e produz cerca de 10 ton/ha de massa verde, e pode produzir 2 ton/ha de semente.

A planta é um excelente pasto apícola, o qual gera um mel rico em antioxidantes, além de possuir ação bactericida e antiinflamatória, ou seja, é um mel de alta capacidade de cura (SILVA *et al.*, 2004). Dispensa o uso de agroquímicos como herbicidas, fungicida e inseticidas. O trigo sarraceno é um grão de ótima qualidade nutricional, rico em fibras, fonte de proteínas e de ferro (ALMEIDA, 1997). Pode substituir o trigo ou o arroz, ou mesmo ser usado no preparo de saladas, sopas, em massas de pães, bolos e panquecas (TOR AGBIDYE *et al.*, 1990).

O trigo sarraceno também é utilizado como planta de cobertura, ou seja, para adubação verde, em função da sua grande tolerância à acidez e capacidade de utilização de sais de fósforo e potássio pouco solúveis no solo, consegue assim bom desenvolvimento em solos pobres (PASCOALETTO *et al.*, 1999). É eficiente no controle de plantas daninhas, tanto de espécies monocotiledôneas quanto dicotiledôneas, decorrente da utilização do sarraceno como cultura de cobertura (MENEZES, 2004).

Em função dos exsudatos radiculares, e pelo fato de ser uma planta de família distinta de todas as cultivadas, vários efeitos positivos sobre doenças de plantas cultivadas já foram observados (PACE, 1964). Outra vantagem é o curto ciclo vegetativo e o torna insubstituível.

No Brasil, o cultivo foi introduzido por colonos escravos e se popularizou nos anos de 1928 a 1930. De 1966 a 1974, o Brasil exportou 185 mil toneladas de grãos de sarraceno, principalmente, para a Europa e Japão (AGUIAR, 1986). Planta com características técnicas e econômicas que trazem resultados econômicos com a colheita de grãos, com produção média de 2 a 3 mil kg/ha. O peso de mil sementes é aproximadamente de 35 gramas (TOMBETTA *et al.*, 1994).

4.2.Crambe (*Crambe abyssinica*)

O crambe destaca-se para a produção de biodiesel por sua rusticidade, precocidade, sobrevivência ao estresse hídrico, fácil cultivo e baixo custo de produção. Planta de ciclo anual, o fruto seco contém de 30 a 38% de óleo (PITOL, 2009). Na região Centro-sul do Mato Grosso do Sul, a época de plantio mais indicada é nos meses de abril e maio. Em caso de ocorrência de chuvas para a semeadura, nos meses de junho ainda pode-se realizar a mesma. Por ser uma cultura de baixo custo, em boas condições de fertilidade de solo, pode-se fazer o plantio com riscos menores que outras culturas (FUNDAÇÃO MS, 2009). Há ainda a possibilidade de optar por semear o crambe após a colheita de milho safrinha efetuada até início de julho (MS FUNDAÇÃO, 2010).

O crambe adapta-se bem à semeadura direta, sendo a profundidade ideal em torno de 3 cm. O espaçamento deve ser de 17 a 20 cm, pois a cultura fechará o solo mais rapidamente, competindo com invasoras, visto que não há herbicidas para o controle de invasoras de folha larga (PITOL *et al.*, 2010). O estande recomendado varia de 70 a 120 plantas por metro quadrado. Em média, indica-se 25 a 30 sementes por metro linear. Gasta-se em média 15 kg de sementes por hectare. Indica-se semear a cultura em solos bem corrigidos com pH acima de 5,8 (BROCH,; ROSCOE, 2010). Quanto menos alumínio no solo e solos profundos, mais tolerante à seca vai ser a cultura. Em relação ao solo, e sua fertilidade, ainda não há recomendações específicas, e até que nível de adubação é viável, sendo indicado, em média, adubação de até 150 kg/ha de fórmulas similares ao 04-14-8 (NASCIMENTO *et al.*, 2012).

A planta bem como seus subprodutos (torta e farelo) contém uma substância chamada glucosinolato presente nas folhas e hastes (ROSCOE; DELMONTES, 2009). O farelo pode ser utilizado como fertilizante e disponibilizada aos ruminantes, como

fonte protéica devido a maior tolerância desse grupo de animais a este composto, por outro lado, deve ser evitado o consumo do farelo por suínos e aves por apresentar menor tolerância ao glucosinolato, este composto proporciona ao crambe uma maior tolerância contra ataque de pragas (PITOL *et al.*, 2010).

O óleo presente no crambe é impróprio para consumo humano, pois contém 50 a 60% de ácido erúcico que é utilizado como lubrificante industrial, na produção de borracha sintética, isolamento elétrico, surfactantes, inibidores de corrosão (WARWICKGUGEL, 2003).

Pesquisas realizadas pela Fundação MS, apontaram para uma produção entre 1.000 e 1.500 Kg/ha. A grande tolerância à seca, à geadas e a sua precocidade são as grandes vantagens desta cultura, que floresce aos 35 dias e tem uma maturação rápida após o florescimento (PITOL; ROSCOE, 2010), possibilitando a colheita entre 85 e 90 dias, com maturação uniforme. O ideal é que neste período não chova, possibilitando uma maturação mais uniforme não havendo prejuízo à qualidade do produto. A ocorrência de boa umidade na fase de implantação da cultura e início de crescimento são condições ideais para a cultura.

4.3. Feijão jacinto (*Hyacinth bean*)

Existem muitas variedades de feijão jacinto, que produzem belas flores e folhas em cores diferentes. Os grãos podem ser utilizados como alimentos para animais ou como alimento humano (VILELA, 1998).

É uma forrageira de ciclo vegetativo anual, com forma de crescimento herbáceo, de crescimento indeterminado, tem produção da matéria seca de aproximadamente 8 t MS/ha/ano, e teor de proteína na matéria seca de 18%. É tolerante a insetos e doenças.

O espaçamento recomendado entre linhas é de 50 cm, com 8 sementes por metro linear (45 kg/ha de sementes). Quando plantado com matraca recomenda-se duas a três sementes por cova, espaçadas 40 cm uma da outra (VILELA, 1998). Quando a lanço, normalmente se gasta um pouco mais de sementes. O peso de 1.000 sementes é de 239 a 251 g. Se em monocultivo a distância recomendada entre sulcos é de 80 a 120 cm, e entre plantas 30 a 50 cm isso está em uma taxa de 15 a 20 k de semente/ha, para produção 30 kg/ha, quando se planta em associação com gramíneas e quando é plantada

com milho, a taxa usada é de 6 a 10 kg/ha. Deve-se semear a uma profundidade de 1 a 3cm. A semente normalmente tem uma taxa de germinação alta, entre 75 a 95%. (VILELA, 1997). Produz-se aproximadamente 500 kg/ha de semente e ocorre a fixação de nitrogênio de 220 kg/ha.

Esta cultura é utilizada como adubo verde tendo por objetivo restaurar a fertilidade do solo. É tolerante à seca, uma vez estabelecida e tem alto rendimento de grãos. Possui alta resistência a doenças. .

Como outras leguminosas, o feijão jacinto fixa nitrogênio, o que o torna uma cultura de boa cobertura. Também é usado às vezes como forragem para gado. Em muitas partes do mundo, feijão de jacinto é cultivado como uma planta para agricultura familiar (VILELA, 1997).

É uma fonte de alimentação importante em regiões tropicais da África e Ásia. Nos Estados Unidos é cultivada mais como uma planta ornamental. Bons resultados foram obtidos quando plantados juntamente com o milho para silagem e como cultura de cobertura para pomares e plantações de café. O teor de proteínas dos feijões varia de 20-28%, os aminoácidos são bem equilibrados com elevado teor de lisina. As folhas têm teor de proteína de 28%, variando de acordo com a época produz flores e vagens intermitentemente, resultando em uma maturação desuniforme. Dependendo da variedade, se produz altas quantidades de sementes, entre 1 a 2.5 t/há (VILELA, 1998).

4.4. Soja preta (*Glycine max*)

O Brasil é o segundo maior produtor de soja (*Glycine max*, L.), sendo responsável por quase 30% da colheita mundial. Mais de 80% da produção total é destinada à extração de óleo e proteína para a alimentação humana, sendo que o consumo na forma de grão e de produtos industrializados vem crescendo, como alternativa a proteínas de origem animal e devido aos potenciais benefícios à saúde. Grande parte da literatura científica refere-se à soja amarela, enquanto estudos sobre soja preta ainda são escassos.

A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) anunciou em meados de 2012 o desenvolvimento de um cultivar de soja preta, o qual foi possível através de sucessivos cruzamentos genéticos com o objetivo de obter um cultivar mais

resistente a doenças. O grão já está sendo cultivado em campos experimentais em Uberaba, no Triângulo Mineiro, e a estimativa é que a soja preta esteja disponível para o plantio em quatro anos. Os estudos da EPAMIG foram feitos em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e a Fundação Triângulo de Pesquisa e Desenvolvimento.

O lançamento desta cultivar só foi possível devido ao desenvolvimento de quase dez anos de pesquisa que pertence a um programa de mais de 25 anos de melhoramento da soja da EMBRAPA. Desde que chegou ao Brasil, em 1908, junto com os primeiros imigrantes japoneses, a oleaginosa não caiu no agrado do paladar do brasileiro, cujo consumo é tão pequeno que sequer é medido por estatísticas. Os japoneses, pelo contrário, consomem 8 gramas diários do grão.

Assim essa nova cultivar, a soja preta é vista como uma boa alternativa de conquistar o consumidor. Nas pesquisas, buscam alternativa nova a alimentação humana com a possibilidade de ser cozida junto ao feijão preto, ou até mesmo em substituição ou ainda ser preparada separadamente.

4.5. Chia (*Salvia hispanica*)

A chia é uma planta herbácea assim como o linho. É nativa da Guatemala e das regiões central mexicanas e da Colômbia (AYERZA; COATES, 2000). Há evidência de que os astecas cultivavam o vegetal em tempos pré-colombianos presente no código Mendonza datado do século XVI, documento no qual também se mencionava sua relevância agrícola à época. A chia é uma pequena semente de forma oval com 2 mm de comprimento.

Chia é a palavra maia para designar força (CAHILL, 2003), uma vez que as sementes eram utilizadas por estas culturas como alimento de mega-energia e isto tudo porque elas possuem cinco vezes mais cálcio que o leite, duas vezes mais potássio que as bananas, três vezes mais antioxidantes que as famosas uvas do monte, três vezes mais ferro que o espinafre. São fontes de proteína completa, fornecendo todos os aminoácidos essenciais de que precisamos. São também mais ricas em fibras do que a aveia e contêm mais ômega 3 que a linhaça (PEIRETH; MEINER, 2008).

Mais conhecida por sua semente, a qual é comercializada integralmente, moída ou em forma de óleo, a chia também é dona de folhas que podem ser aproveitadas para infusões. Ambos derivados, independente da forma, são tidos como ricas fontes de minerais, aminoácidos essenciais, e frequentemente enaltecido seu potencial em prevenir doenças cardiovasculares, diabetes e até tumores, além do de auxiliar na perda de peso. A semente é visivelmente a principal parte da planta nos âmbitos comercial e gastronômico (CAHILL, 2003). Atualmente a chia é cultivada para fins comerciais no México, Argentina, Bolívia, Peru e Colômbia.

A chia é, assim como a linhaça, uma semente mucilaginosa (MARTHA et al, 2012). Estas sementes são de fato ricas em mucopolis-sacarídeos e constituem uma excelente fonte de fibras alimentares solúveis e insolúveis e são também uma boa fonte de proteínas de alta qualidade com um excelente padrão de aminoácidos. Rica em minerais com 0,65 % de cálcio, um valor muito mais alto do que na maior parte das outras sementes, é por vezes, considerada um alimento funcional dadas suas características compositivas (BRESSION, et al, 2009). Seu efeito mucilaginoso, ou seja, o de absorver e reter quantidade significativa de água, como um emulsificante devido à alta concentração de fibras, torna a chia interessante para quem busca emagrecer, posto que pode intensificar a sensação de saciedade, quando utilizada de maneira integral, pode ter diversos usos culinários. (ANTRUEJO et al 2011). Agindo quase como emulsificante, torna líquidos mais próximos de um gel e dá "liga" a massas. (CAHILL, 2003).

A semente de chia pode ser inserida em receitas como pudins, pães, tortas, quiches, mousses, cremes, patês, risotos, farofa, saladas de frutas, sucos e vitaminas. Na China alguns vírus já foram identificados, dentre eles cita-se *Clerodendron mosaico dourado virus* em plantas de *Salvia* (PROVANCE, 2008) e dois vírus de DNA (CAHILL, 2003).

4.6. Linhaça (*Linum usitatissimum*)

O linho é uma planta herbácea que chega a atingir um metro de altura. Compõe-se basicamente de uma substância fibrosa, da qual se extraem as fibras longas para a fabricação de tecidos e de uma substância lenhosa. Produz sementes oleaginosas e a sua

farinha é utilizada para cataplasmas de papas, usada para fins medicinais. (DUKE, 1978).

Plantam-se três tipos de linho: a) linho de fibras (linho para debulhar), para a obtenção de fibras têxteis; b) a semente, para a obtenção de óleo de linhaça; c) linho de cruzamento, conseguido pelo cruzamento do linho de fibras com óleo, foi desenvolvido para dar um rendimento suficiente de fibras e óleo. A fibra, contudo, ainda não satisfaz as esperanças nela depositadas pela indústria. (RATIM, WOLLMANN, 1976). Para que o feixe de fibras não sofra interrupção, baixando assim o valor da fibra para a fiação, é indispensável cuidar para que o talo não se ramifique. Consegue-se isso mediante a semeadura compacta.

Os talos têm uma altura aproximada de 50 a 100 cm; o comprimento mais comum é 80cm, com ramificação na parte superior. (DYBING, LAY, 1981). Das flores, de cor azul- claro, desenvolvem-se cápsulas de sementes com cinco lojas ou células. O interesse econômico principal desta cultura está na obtenção de óleo de linho. A planta baixa ramifica-se muito, origina mais flores, produzindo assim maior quantidade de sementes de óleo. A extração de fibras é desprezada.

A linhaça é a semente do linho (*Linum usitatissimum*), muito utilizada em culinária, onde é consumida com casca e dela se extrai o óleo de linhaça que é rico em ômega 3, ômega 6 e ômega 9 (DUKE,. 1978). Além disso, o óleo da linhaça é usado na indústria cosmética e em farmácias de manipulação.

A linhaça dourada desenvolve-se em climas muito frios, como norte dos Estados Unidos e no Canadá, maior produtor mundial de linhaça. A linhaça marrom pode desenvolver-se em regiões de clima quente e úmido, como é o caso do Brasil. A linhaça dourada apresenta índices de lignina superiores aos da linhaça marrom. Entretanto, ao contrário do que alegam os que comercializam a linhaça dourada, existe discreta vantagem para a linhaça marrom, que é 100% nacional, em relação à quantidade de ômega 3 (TRUCOM, 2006). Em abundância no Brasil, as sementes de cor marrom já foram acusadas de maior toxicidade e menor funcionalidade nutricional. Isso ocorre talvez por serem menos estudadas que as douradas, variedade que é consumida e pesquisada há mais tempo pelos maiores produtores mundiais do hemisfério norte (TRUCOM, 2006). A fibra rende de 200-1200 kg/ha. A produção de semente possui rendimentos de 220 a 2820 kg/ha, mas há regiões em que os rendimentos podem ser

muito mais altos. Há registros de rendimentos de semente na região norte-americana de 2460 kg/ha nos Estados do norte para 4390 kg/ha no inverno (DYBING, 1981).

O linho pode ser parasitado por vários patógenos (DUQUE, 1978). Espécies de vírus como *Alfafa mosaic alfamovirus* e *Tobacco rattle tobnavirus* já foram descritas na cultura (REED, 1976).

4.7. Grão de bico (*Cicer arietinum*)

O grão-de-bico (CICER ARIETINUM L.) é uma leguminosa produzida, principalmente, no Sul do Brasil. É uma planta herbácea, de ciclo anual, com folhas verde-amareladas, flores brancas e que alcança até 60 cm de altura, em cujo interior se encontram entre 2 a 3 grãos. Os grãos de cor castanho-claro, ou verdes, são arredondados, tendo uma pequena "espora" indicada para cultivos de outono e inverno, apresenta extensa variação na forma, tamanho e coloração dos grãos (VAN DER MAESEN, 1987). Os solos mais indicados para o seu plantio são os argilosos, ou os arenosos, que podem variar de textura (MUEHLBAUER, 1996). O grão-de-bico é um legume com importantes qualidades culinárias e nutritivas, sendo rico em proteínas, sais minerais e vitaminas do complexo B. Além disso, devido à grande quantidade de celulose contida na casca, e devido à sua grande quantidade de amido, é usado pelo nosso organismo como fonte de energia. É pobre em água e gorduras, e está isento de colesterol. (MUEHLBAUER; SINGH, 1987). Contém ainda elevadas quantidades de ácido fólico. Cada 100g de grão contém 6g de fibras, sendo na sua maioria, fibras solúveis, ajudando de uma forma bastante eficaz o nosso organismo a eliminar açúcares, gorduras e o colesterol. O teor de proteína é de 20 a 30%. Possui muitas fibras, zinco, potássio, ferro, cálcio e magnésio. Se for consumido todos os dias, faz ganhar massa muscular, aumenta o bom humor, reduz o nível de colesterol ruim e regula o intestino (VAN DER MAESEN, 1987).

Apesar de não ser muito comum na alimentação dos brasileiros, a produção atual não é suficiente para atender o mercado interno, fazendo com que exista um processo de importação regular desse produto, principalmente do Chile e Argentina. Sendo um alimento relativamente barato oferece uma grande versatilidade na culinária e é indispensável numa dieta alimentar equilibrada. Para o consumo humano, é preparado

cozido e, além disso, suas folhas são utilizadas como forragem para alimentação animal (MALHOTRA, PUNDIR, SLINKARD, 1987). É produzido principalmente pela Índia, responsável por mais de metade da produção mundial. Muito apreciado nos países mediterrâneos e em certas regiões da Ásia e da América, o grão-de-bico já era muito conhecido na época dos romanos, graças a sua notável resistência às variações climáticas e à seca.

É uma planta de origem asiática de regiões muito frias e, por esta razão, se adapta melhor na região Sul, por suas temperaturas mais baixas. (SINGH, 1997) Apesar disto, existem variedades que podem se adaptar às condições do cerrado e com uma produtividade muito boa, acima das médias mundiais.

Sendo sua produtividade normal de 1.200 kg/ha de sementes, sem irrigação, e 1.500 a 2.400 kg/ha de sementes, com irrigação (MUEHLBAUER, 1996). Nos cerrados brasileiros, é feito o plantio em meados de abril até o início de maio. São conhecidos dois tipos de grão-de-bico, desi (colorido, pequeno de semente angular e fibrosa) e kabuli (bege e grande).

Algumas espécies de vírus atacam a cultura, o *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Alfafa mosaic virus* (AMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (SINGH, 1987) e *Faba bean necrotic yellow virus* (FBNYV) (SINGH, 1988).

4.8. Lentilha (*Lens culinaris*)

As lentilhas eram cozidas desde os primórdios da civilização no Oriente Médio, onde se espalharam para a Europa do sul e central e para o norte de África. A sopa de lentilhas continua a ser uma preparação popular em toda a região (LEWIS, 2005). As lentilhas são benéficas para a saúde, principalmente devido às fibras que fornecem ao organismo, mas também devido a vários compostos importantes para o metabolismo, como os fosfatos e vários minerais. (WOJCIECHOWSKI, 2005). Consumir lentilhas durante a passagem de ano é uma crença popular, com promessas de um ano lucrativo.

O Brasil tem importado quase a totalidade da lentilha destinada ao consumo (APG II). Praticamente todo o consumo interno desta leguminosa é suprido por meio de importações principalmente do Canadá, Argentina e Estados Unidos, atingindo o valor médio de US\$ 440,00 (FOB) por tonelada. Isto ocorre, devido, principalmente, à falta

de interesse dos grandes importadores/empacotadores em estimular a produção nacional, bem como a inexistência de tradição de cultivo por parte de nossos agricultores (LUCKOW, 2008). As lentilhas estão entre os cinco legumes mais importantes no mundo e é extremamente importante nas dietas de populações da Índia e o Oriente Médio (FAO, 2012). Lentilhas são legumes altamente apreciados devido ao gosto e qualidade nutricional que os fazem muito caro para se alimentar o gado (LUCKOW, 2008). O preparo culinário da lentilha pode ser cozido, frito, e é usado em uma gama extensiva de pratos (sopas, saladas, guisados), farinha de lentilha é usada para massa, pão e goma. Além dessas opções, pode-se preparar as vagens jovens e folhas como legume. (HEUZE, 2013).

A lentilha pode ser um valioso aliado em rotações de cultura de cereal (DOYLE, 2009). As lentilhas são leguminosas, fixadoras de nitrogênio através da simbiose com umas bactérias do gênero *Rhizobium leguminosarum*. É uma opção à agricultura irrigada de inverno, principalmente na região dos cerrados, onde esta cultura alcançou produtividades variando de 1200 a 1500 kg/ha. É uma cultura não muito exigente, de ciclo relativamente curto e totalmente mecanizada. Aliado a estes fatores, não se dispunha de tecnologia adequada para a produção, bem como de cultivares adaptadas às nossas condições edafoclimáticas (HEUZE, 2013).

Hoje, graças aos trabalhos de pesquisa realizados por diferentes instituições, esta tecnologia está disponível assim como já existem cultivares promissores para algumas regiões, que sofrem com ataque de pragas. Como espécies de vírus na cultura, cita-se *Bean yellow mosaic virus* - BYMV, AMV e *Pea enation mosaic virus* - PEMV (LEWIS, 2005).

5. Avaliação das espécies selecionadas como possíveis hospedeiras de *Potato virus Y* (PVY), *Groundnut ringspot virus* (GRSV) e *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV)

5.1. Aspectos Gerais

A produção de alimentos é um desafio constante na agricultura. As espécies crambe, trigo sarraceno, grão de bico, linhaça, chia, feijão, jacinto, soja preta e lentilha tem sido apontadas como substitutas a algumas outras espécies cultivadas. Diversos patógenos acometem as culturas destacando-se dentre eles espécies de vírus e fungos.

A introdução destas culturas ao cultivo abre perspectivas de fontes substitutas a vários produtos na agricultura, porém levanta a preocupação referente a aspectos fitopatológicos quanto ao levantamento e diagnose de patógenos nestas culturas; papel destas espécies de plantas como potenciais hospedeiras de patógenos importantes e controle de patógenos.

Espécies de vírus são transmitidas na natureza através de diferentes formas, desde sementes, contato mecânico entre plantas, inoculações mecânicas, enxertias, pólen e cuscuteira.

Os gêneros *Tospovirus*, *Potyvirus* e *Begomovirus* destacam-se com suas espécies *Groundnut ringspot virus* (GRSV), *Potato virus Y* (PVY) e *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) por sua grande importância na agricultura e por causarem doenças em diversas solanáceas, dentre elas pimentas, pimentões, berinjela e tomate, sendo o tomate é uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil e no mundo.

Espécies de *Begomovirus* constituem atualmente um dos mais sérios problemas para esta cultura. Espécies classificadas neste gênero são transmitidas pelo vetor *Bemisia tabaci*. Devido à grande diversidade de espécies de *Begomovirus* existentes em todas as regiões onde o tomateiro é cultivado aliado à dificuldade de controle químico de *B. tabaci*, que além de oneroso, tem propiciado o desenvolvimento de populações resistentes a inseticidas, a melhor opção tem sido o emprego de medidas integradas de controle, dentre elas o uso de materiais resistentes e erradicação de fontes de inóculo.

Espécies de *Tospovirus* são transmitidas de forma mecânica e através de vetores (gêneros *Trips* e *Frankliniella*) estabelecendo um tipo de relação circulativa não propagativa. Já as espécies de *Potyvirus* são transmitidas mecanicamente e via vetor afídeo. Conforme mencionado acima algumas medidas desejáveis de controle para espécies de *Potyvirus* e *Tospovirus* consistem em uso de materiais resistentes e diminuição de fontes de inóculo (que pode ser feita através de erradicação ou plantios em áreas afastadas de potenciais fontes de inóculo)

Desta forma o objetivo deste capítulo foi avaliar o potencial destas plantas como hospedeiras de ToCMoV, PVY e GRSV, determinando assim se as mesmas podem funcionar como fonte de inóculo destes vírus em campo.

5.2. Método do processo de inoculação mecânica - *Groundnut ringspot virus* - GRSV e *Potato vírus Y* - PVY

Os experimentos foram realizados na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (EEB- UnB), onde foram cultivadas em vasos em casa de vegetação.

Passo 1: Plantio - Sementeiras das espécies crambe, trigo sarraceno, grão de bico, linhaça, chia, feijão jacinto, soja preta e lentilha foram preparadas em vasos de plástico sendo utilizadas 50 sementes de cada acesso. Foram plantadas 20 sementes de *Datura stramonium* (controle positivo para *Groundnut ringspot virus* - GRSV) juntamente com 20 sementes de TNN (controle positivo para *Nicotiana tabacum* para *Potato vírus Y*) e 20 sementes de tomate de Santa Clara (controle positivo para *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV).

Passo 2: Transplante - O transplante foi feito 10 dias após germinação, em vasos separados e etiquetados contendo solo autoclavado.

Passo 3: Inoculação - Aproximadamente sete dias após o transplante foram utilizadas 13 mudas de cada acesso em vasos, os quais 12 foram inoculados de forma mecânica com a espécie GRSV utilizando fonte de inóculo macerado em tampão de inoculação Fosfato de potássio (0,5 M pH 7,0) gelado contendo sulfato de sódio a 0,1 %, inoculadas com carborundum (400 mesh) como fonte abrasiva, mantendo um vaso de controle não inoculado. Foram também utilizadas 13 mudas dos mesmos acessos, sendo 12 vasos inoculados mecanicamente com a espécie PVY, mantendo um vaso não inoculado. Passados sete dias após primeira inoculação, as mesmas plantas foram reinoculadas (**Figura 2 e 3**). Foram feitas avaliações visuais a cada sete dias.

Passo 4 : Avaliações - As avaliações foram feitas aos 7, 14, 21, 28, 35 e 60 dias após a re-inoculação mediante presença ou ausência de sintomas (**Figura 4 e Figura 5**).

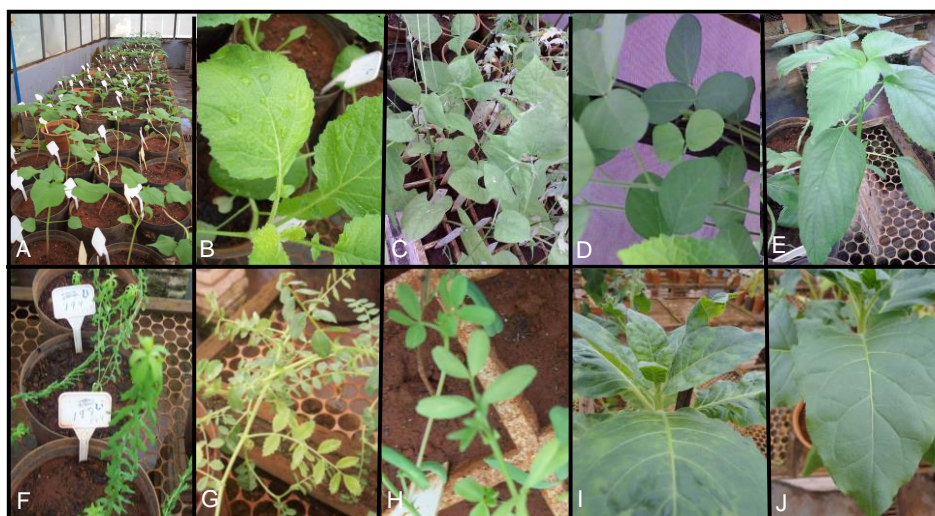


Figura 2. Plantas inoculadas com *Potato virus Y* e *Groundnut ringspot virus*, 20 dias após semeio.



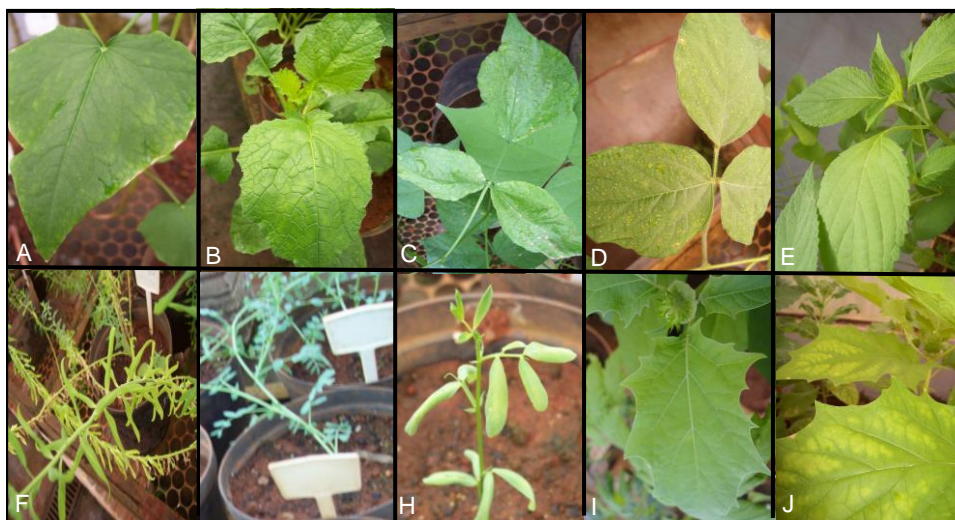
Figura 3. Plantas inoculadas com as espécies *Potato virus Y* e *Groundnut ringspot virus*, 35 dias após semeio.

Figura 4. Plantas inoculadas com PVY abaixo



A) Trigo sarraceno, B) Crambe, C) Feijão jacinto, D) Soja Preta, E) Chia, F) Linhaça, G) Grão de bico, I) Fumo: controle positivo, J) Fumo, controle negativo

Figura 5. Sintomas apresentados em plantas inoculadas com GRSV



A) Trigo sarraceno, B) Crambe, C) Feijão jacinto, D) Soja Preta, E) Chia, F) Linho, G) Grão de bico, H) Lentilha, I) Controle (-) Datura estramonium, J) controle (+) D.s

5.3. Método do processo de inoculação de *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) via vetor *Bemisia tabaci*

Passo 1 : Plantio - Em bandejas de isopor foram transplantadas 12 plântulas de cada acesso (espécies de crambe, trigo sarraceno, grão de bico, linhaça, chia, feijão jacinto, soja preta e lentilha) mantendo em cada bandeja igualmente plantadas, sementes do controle tomate Santa Clara, frente à espécie *Tomato chlorotic mottle virus* - ToCMoV.

Passo 2: Inoculação - As plântulas foram inoculadas em incetario via vetor virulífero *Bemisia tabaci* durante 20 dias. Todos os dias as plantas eram rotacionadas para favorecer a inoculação de maneira igualitária, e alterada a disposição para que todos os acessos fossem igualmente visitados pelo inseto vetor (**Figura 6**).

Passo 3: Coleta - Ao vigésimo dia coletou-se a terceira folha do ápice para a base com o intuito de avaliar a colonização do vetor, sendo feita a contagem de ovos, ninfas em primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstares, e os adultos.

Passo 4: Pulverização - As bandejas foram retiradas da casa de moscas, pulverizadas com inseticida Imidacloprid, sendo transplantadas em vasos, contendo solo autoclavado.

Passo 5: Avaliações - A avaliação dos sintomas foi feita aos 7, 14, 21, 28, 35 e 60 dias após o tratamento para o vetor (**Figura 7**).

Figura 6. Plantas inoculadas via vetor (*Bemisia tabaci*)

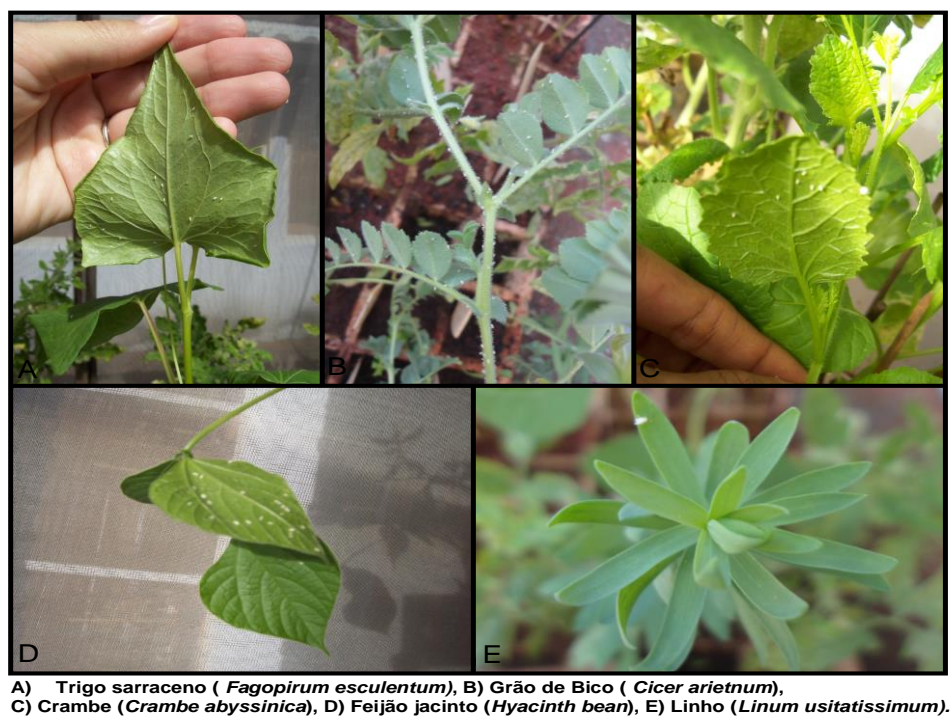
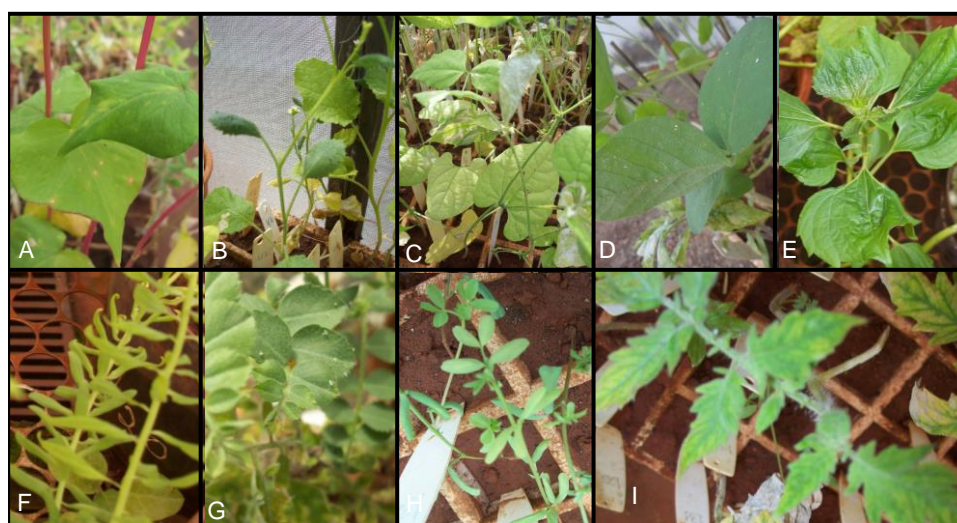


Figura 7. Sintomas observados em plantas inoculadas via vetor (*Bemisia tabaci*)



5.4. Método do processo de avaliação de sintomas e detecção de *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) via hibridização de ácido nucléico

Passo 1: Detecção - Para detecção viral foi feita a hibridização de ácidos nucléicos, através da técnica de Dot-plot, fazendo o corte da segunda folha a partir do ápice das plantas testadas, e levemente a pressionada sobre membrana de náilon (Amersham Hybond-N+), já tratada com NaOH %2 por 5 min, Tris-HCL 1 M ph 7.4 por cinco minutos, SSC 2 X por 5 min. Por meio de sondas radiotivas para o componente A viral, foi possível a detecção, utilizando o kit *Rediprime II Labeling System* (GE healthcare), conforme instruções do fabricante.

Passo 2: A hibridização foi feita com tampão Church modificado a 55⁰C com sucessivas lavagens com SSC 2 X, SDS 0,1 % em temperatura ambiente.

Passo 3: A membrana foi exposta no Imagine plata BAS-MS (Fuji Film) e analisadas em equipamento de Bioluminescence Analyser FLA 3000 (Fuji Film) (FONTENELE *et al*, 2010).

5.5. Contagem de ovos, ninfas e adultos de *Bemisia tabaci*

Para verificar a colonização das moscas-brancas nas plantas cultivadas foi realizada a contagem de ovos, ninfas e adultos do vetor *Bemisia tabaci*.

5.6. Dot-Elisa: GRSV e PVY

O teste de detecção sorológica Dot-ELISA, foi realizado em membrana de Nitrogenase Hybond C. Foram coletados aproximadamente três discos foliares, da terceira folha a partir do ápice. Levados ao laboratório de Virologia – UnB, lá macerado em 1 mL solução tampão PBS-1X (0,1% de sulfito de sódio). Em todas as amostras, foram seguidos os mesmos procedimentos, de 1:10 p/v (PIO-RIBEIRO, *et al*, 1993). Em membrana já preparada aplica-se 2 µl de amostra, espera secar para aplicação de solução de bloqueio PBS-Tween 2% (PBS-T) + 5% p/v de leite desnatado, para que ocorra o isolamento das regiões não ocupadas, após uma hora sob agitação constante. Foram efetuadas três lavagens seguidas com 10 ml de PBS-T por 10 min cada procedimento. Após as lavagens o anticorpo policlonal para GRSV ou PVY na

proporção de 1:1000, foi adicionado. Manteve por 2 horas em agitação constante, seguiram-se três lavagens em PBS-T por cinco minutos sendo agitadas a cada lavagem, em seguida um segundo anticorpo foi adicionado (anti-rabbit-Invitrogen) 1:30000, repetindo a agitação por três horas, seguidas sucessivas lavagens sob agitação, foram adicionados 10 mL da solução com substrato NBT-BCIP, onde adicionou-se 33 µL de BCIP (5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato) e 66 µL de NBT (Cloreto Nitroazul de Tetrazólio). Mantendo sempre sob agitação constante, até que se houvesse a formação de manchas púrpuras no local de deposição das amostras, indicando a presença do vírus é feita de imediato uma lavagem em H₂O destilada, para isolamento (**Figuras 8 e 9**).

Figura 8. DOT-ELISA para PVY

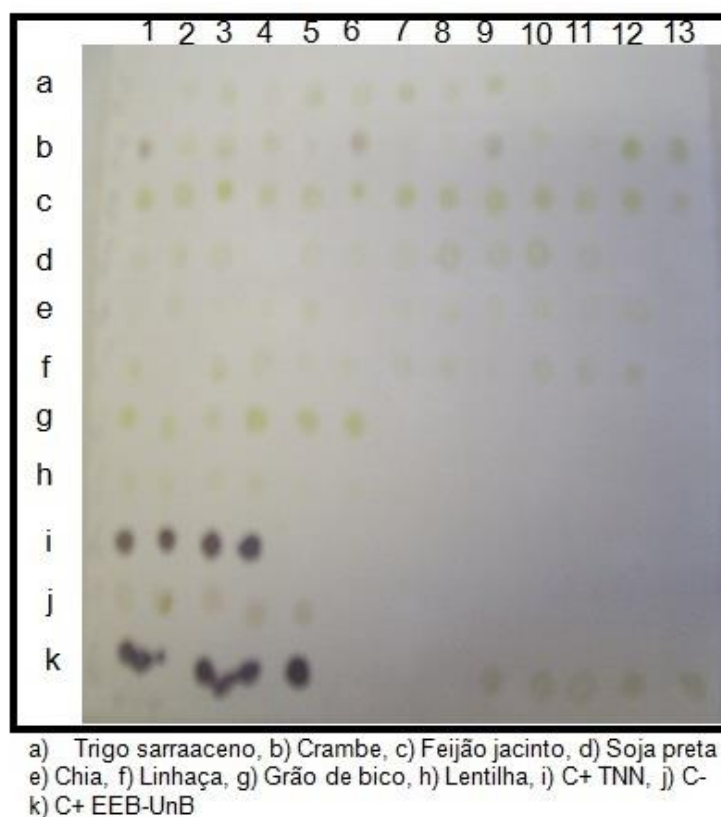
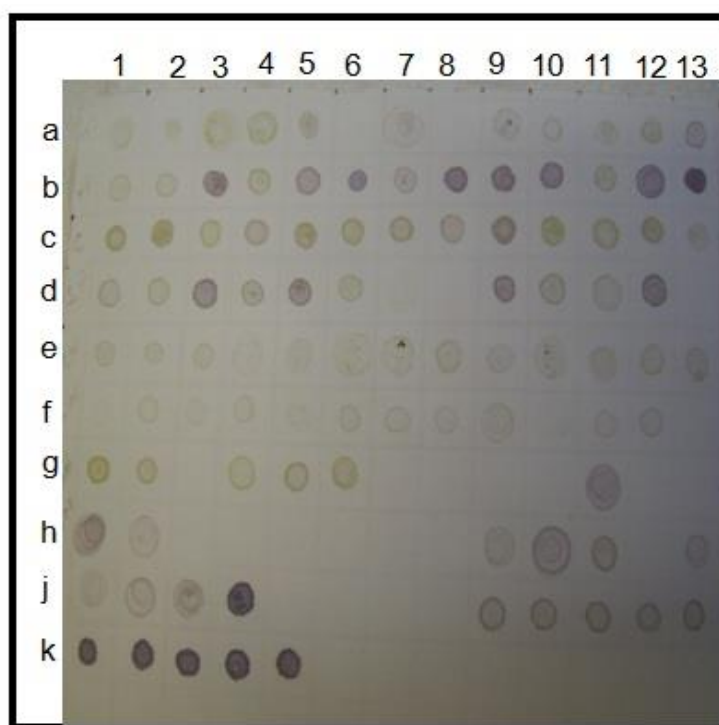
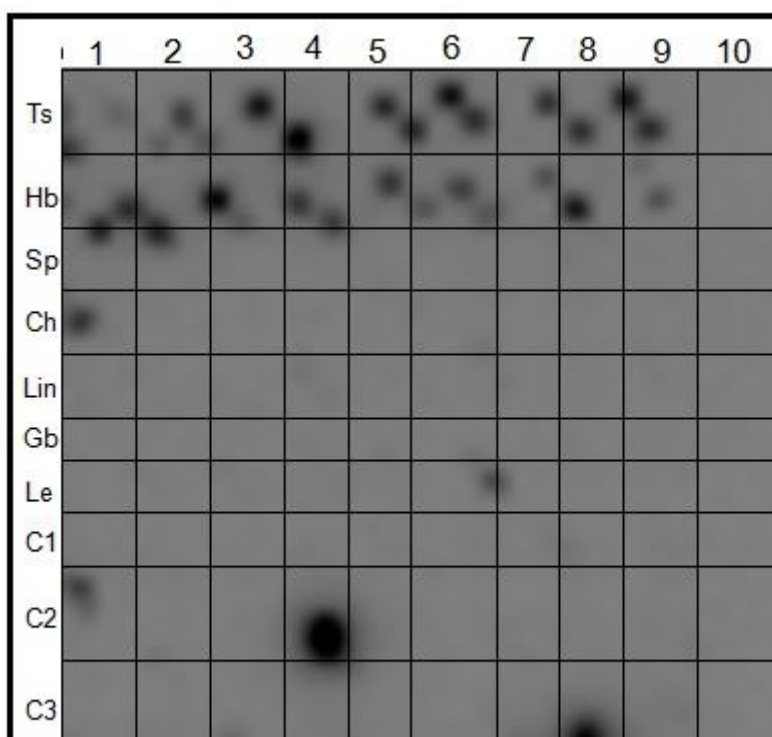


Figura 9. DOT-ELISA para GRSV.



Trigo sarraaceno, b) Crambe, c) Feijão jacinto, d) Soja preta
 e) Chia, f) Linhaça, g) Grão de bico, h) Lentilha, i) C+ TNN, j) C-
 k) C+ EEB-UnB

Figura 10. Hibridização para ToCMoV.



Trigo sarraceno, Hyacinth bean, Soja preta, Linhaça, Grão de
 bico, Lentilha, Contole negativo, C 2 e 3 controle (+)Tomate

5.7. Resultados e discussão

5.7.1. Gênero *Potyvirus*

Todas as espécies foram testadas frente à espécie *Potato virus Y*. O controle usado como positivo (*Nicotiana tabaccum* TNN) apresentou sintomas visuais em todas as avaliações e sinal positivo em Dot-Blot, entretanto nenhuma das amostras avaliadas apresentou resultado positivo mediante o teste sorológico (**Figura 4 e Tabela 2**).

5.7.2. Gênero *Tospovirus*

O controle positivo *Datura estramonium*, apresentou uma planta positiva mediante avaliação visual e outras três sem sintomas típicos de GRSV. A quinta planta usada como controle positivo morreu antes do teste sorológico. Em Dot-Blot uma destas plantas apresentou forte sinal positivo, duas apresentaram sinal fraco e uma não apresentou nenhum sinal indicando que não houve eficiência de 100% na inoculação (**Figura 5 e Tabela 2**).

Das oito espécies de plantas avaliadas neste trabalho para *Groundnut ringspot virus*, trigo sarraceno (três plantas), feijão jacinto (nove plantas), soja preta (cinco plantas), lentilha (três plantas) e grão de bico (uma planta) apresentaram resultados positivos em Dot-Blot. Assim espécies contendo plantas que por ventura não tenham sido detectadas como positivas em Dot-Blot deverão ser re-testadas futuramente (**Figura 5 e Tabela 2**).

Groundnut ringspot virus (GRSV) juntamente com outras três espécies de Tospovirus causa a doença conhecida como ‘vira-cabeça do tomateiro’ e é um importante patógeno para várias outras espécies cultivadas. De acordo com o resultado obtido as plantas citadas acima podem ser consideradas como potenciais hospedeiras desta importante espécie de vírus de plantas e deverão ser avaliadas novamente para determinar se a infecção precoce por GRSV acarreta perdas na produção destas culturas.

5.7.3. Gênero *Begomovirus*

Para *Tomato chlorotic mottle virus*, após a retirada das plantas da casa das moscas virulíferas, procedeu-se a coleta da terceira folha de cada planta a qual foi submetida a contagem de ovos, ninfas e adulto. Em todas as repetições de cada planta foram observados altos índices de todos os estágios do vetor *Bemisia tabaci*, exceção feita para trigo sarraceno onde, apesar da observação de oviposição, as taxas foram menores quando comparadas ao controle suscetível Santa Clara e as demais espécies aqui avaliadas.

Quanto à avaliação de sintomas, os controles apresentavam sintomas típicos de vírus e algumas plantas (exceto linhaça) apresentaram sintomas de desvio de cor (**Figura 7**). Muitos destes sintomas provavelmente estão relacionados a outros fatores.

O teste molecular de hibridização de ácidos nucleicos foi realizado aos 35 dias após o término da inoculação (dati), entretanto neste momento muitos destes controles haviam morrido. Não foi possível detectar nenhum sinal do controle na membrana, entretanto trigo sarraceno e feijão jacinto foram positivas. Este ensaio deverá ser repetido futuramente já que as plantas do controle positivo não foram detectadas como positivas por hibridização molecular.

Tomato chlorotic mottle virus é uma importante espécie dentro do gênero *Begomovirus* que afeta diversas solanáceas, incluindo a espécie cultivada *Solanum lycopersicum*. As espécies trigo sarraceno e feijão podem ser fontes de inóculo deste vírus no campo. Ensaio futuros deverão ser realizados com ToCMoV nestas culturas pois dependendo do estágio de infecção este vírus pode ser um problema nestas culturas também.

Tabela 1. Número de plantas das espécies cultivadas após avaliação dos sintomas e testes de detecção

Espécies virais Espécies cultivadas	GRSV ¹		PVY ²		ToCMoV ³	
	Nº plantas positivas		Nº plantas positivas		Nº plantas positivas	
	Sintoma	Dot- Elisa	Sintoma	Dot- Elisa	Sintomas*	Hibridização
Trigo Sarraceno (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	1/10	1/11	3/10	0/10	7/7	8/8
Crambe (<i>Crambe abyssinica</i>)	2/11	0/11	0/12	0/12	6/8	0/0
Feijão-jacinto (<i>Hyacinth bean</i>)	7/12	9/12	0/112	0/12	4/8	8/8
Soja Preta (<i>Glycine max</i>)	5/10	5/10	8/10	0/12	8/8	0/0
Chia (<i>Salvia hispanica</i>)	0/12	0/12	0/12	0/12	12/12	0/0
Linhaça (<i>Linum usitatissimum</i>)	0/12	0/12	0/12	0/12	6/9	0/0
Grão de Bico (<i>Cicer arietinum</i>)	0/5	1/6	6/6	0/12	5/8	0/0
Lentilha (<i>Lens culinaris</i>)	1/3	3/6	4/4	0/4	4/6	0/0
Tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i>)	-	-	-	-	12/12	0/0
TNN (<i>Tabacco</i>)	-	-	4/4	4/4	-	
Datura (<i>Datura stramonium</i>)	1/5	3/5	-	-	-	-

¹Groundnut ringspot virus, ²Potato virus Y, ³Tomato chlorotic mottle virus.

5.8. Conclusões

Para PVY nenhuma das espécies testadas apresentou resultado positivo. Para GRSV, trigo sarraceno, feijão jacinto, soja preta, lentilha e grão de bico apresentaram resultados positivos em Dot-Blot evidenciando que estas espécies constituem potencial hospedeiras de vírus no campo. Para ToCMoV, amostras de trigo sarraceno e feijão preto foram positivas embora o controle não tenha reagido adequadamente. Estas

espécies positivas deverão ser avaliadas futuramente quanto à aspectos de produção após serem submetidas a infecção precoce com os vírus para os quais elas foram positivas.

CAPÍTULO 2

6. Detecção de *Plasmodiophora brassicae* e *Alternaria brassicicola* em *Crambe abyssinica*

6.1. Aspectos Gerais

A necessidade por matéria prima não comestível para a produção de biocombustível vem aumentando ano após ano o país e no mundo. De acordo com Carlsson (2009), 90% do petróleo consumido anualmente é usado como fonte de energia para transporte, geração de calor e eletricidade.

Outras fontes de energia alternativa e renovável vêm sendo cada vez mais comuns. De acordo com o Ministério de Minas e Energia (MINISTERIO DE MINAS E ENERGIA, 2010) o Brasil apresenta 43,9% de sua matriz energética baseada em fontes de energia renovável.

Neste contexto visando contribuir e incentivar a energia por fontes alternativas alguns programas foram criados pelo governo brasileiro como o PNA (Plano Nacional de Agroenergia) e o PROINFA (Programa de Incentivo as Fontes Alternativas de Energia Elétrica).

Nos últimos anos várias espécies vêm sendo utilizadas como matérias primas alternativas, entretanto muitas delas (mamona, dendê e girassol) não têm atingido o sucesso esperado e dados apontam que 75,22% da matéria prima utilizada para a fabricação de biodiesel atualmente é o óleo de soja.

Diante deste quadro Pitol, 2010 dentre outros pesquisadores apontam o Crambe (*Crambe abyssinica*) (**figura 1**) como uma alternativa a ser usada.

O crambe é nativo da região mediterrânea e tem sido cultivado no continente africano, na Ásia central e oeste, Europa, Estados Unidos da América e América do Sul (OPLINGER *et al.*, 1991).

Esta espécie algumas vantagens para cultivo que consistem na não exigência de tratamentos culturais específicos e no baixo custo/ha com operações básicas de preparo da área, plantio, colheita e transporte. Aliado as estas vantagens destaca-se também a rusticidade e precocidade da cultura. Com relação à produção de óleo, o fruto apresenta aproximadamente 38% de óleo, e ácido erúico.



Figura 1. *Crambe abyssinica*, em plantio experimental na Estação Experimental de Brasília - (EEB-UnB)

O crambe encontra-se classificado na importante família Brassicaceae. As plantas classificadas na família Brassicaceae (conhecidas anteriormente como crucíferas, família Cruciferae) correspondem a angiospermas dicotiledôneas. A família encontra-se composta por 338 gêneros e aproximadamente 3.800 espécie, distribuídas por diversas regiões temperadas e nos hemisférios Norte e Sul com maior concentração nas regiões mediterrânea e Asia Central. Várias espécies de importância econômica encontram-se classificadas na família, dentre elas podemos citar: *Brassica napus* (nabo), *B. campestris*, *Raphanus sativus* (rábano), *Sinapis alba* (mostarda branca), *Brassica nigra* (mostarda negra), *Capparis spinosa* (alcaparras) (Hill, 1965) e diferentes variedades de *Brassica oleraceae* e nos últimos anos o crambe vem se destacando pelo seu grande potencial para a produção de matéria-prima para biodiesel.

Assim como outras espécies da família Brassicaceae o crambe pode ser afetado por vários patógenos.

De acordo com WANG *et al.* (2000), o crambe apresenta baixa resistência a doenças. Contrariamente a esta afirmação alguns anos mais tarde PITOL (2010) afirma que dependendo das condições ambientais (baixa precipitação e umidade relativa do ar) a cultura não apresenta problemas com doenças fúngicas.

GLASER (1996) relatou os seguintes fungos em crambe: mofo branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), podridão de raiz (*Pythium* sp), canela preta (*Leptosphaeria maculans*) e alternária (*Alternaria* sp.). A espécie *Alternaria brassicicola* já havia sido relatada anteriormente como a principal doença ligada ao crambe (OPLINGER *et al.* (1991). PITOL (2010) também observaram alguns dos fungos acima citados e também fusário (*Fusarium* sp) e plasmodiofora (*Plasmodiophora brassicae*).

MACAGNAN *et al.* (2010) também identificaram *A. brassicicola* em plantas de crambe no estado de Goiás, entretanto no Brasil o primeiro relato da doença foi no estado do Paraná (CARNEIRO, 2009, CARLSSON *et al.* (2007) descreveram várias espécies de patógenos em crambe (fungos acima já citados) e acrescentam que ocasionalmente podem ocorrer infecções por *Cladosporium* spp., *Epicoccum* spp., *Stemphilium* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium* spp. E também pelo nematoide *Heterodera schachtii*.

De acordo com CORRER (2008) *Rhizoctonia solani*, também pode parasitar o crambe. Em levantamento recente de campo na região oeste do Paraná os fungos, *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. e *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, principal agente (podridão negra das crucíferas).

Para MARINGONI (2005) o crambe é suscetível ainda ao mosaico do nabo (*Turnip mosaic virus*, gênero *Potyvirus*). Outros trabalhos para identificação e caracterização de vírus de crambe são escassos na literatura. De acordo com ASMUS & ANDRADE (2001) O crambe, assim como a ervilhaca-peluda, o tremoço-branco, apresentaram-se suscetíveis à reprodução da importante espécie de nematóide: *Meloidogyne javanica*. Outras culturas como canola e quinoa, permitiram uma maior reprodução ainda do nematóide, sendo consideradas mais suscetíveis que as culturas citadas anteriormente. Por outro lado, as culturas de guandu, guandu-anão e crotolária comportaram-se como resistentes à replicação do nematóide.

Neste contexto torna-se claro a importância de patógenos nesta importante e promissora cultura. Tendo em vista estas informações o objetivo principal deste capítulo foi identificar algumas espécies de patógenos em crambe. Plantas sintomáticas foram observadas em condição de campo na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília (EEB-UnB) e duas espécies foram identificadas e ilustradas a seguir.

6.2. Metodologia

Foram observadas raízes e folhas de plantas de crambe. O material estudado foi coletado na (EEB-UnB).

A identificação preliminar dos fungos foi feita usando-se microscópios estereoscópicos e ópticos e para melhor observação identificação do material, foram confeccionadas lâminas semi-permanentes. Com o auxílio de estilete de ponta fina, retiraram-se pequenas amostras das frutificações fúngicas, transferidas para lâminas contendo corantes à base de lacto-glicerol / azul de algodão ou glicerol - KOH / floxina básica, as quais foram seladas com um mínimo de duas camadas de esmalte de unha.

As fotos de sintomas e colônias fúngicas foram obtidas através de um microscópio estereoscópico Zeiss Steme SZ11 MC80.

Para um dos espécimes estudados tratados neste trabalho, foram tomadas medidas de suas estruturas relevantes, com aproximadamente 50 repetições. As medidas de maior frequência, ou média em alguns casos aparecem entre parênteses nas descrições após os dois números que indicam o intervalo de variação das medidas.

As informações dos dois espécimes aqui estudados foram apresentadas e em congressos na área de Fitopatologia.

6.3.Resultados e Discussão

6.3.1. Identificação de *Alternaria brassicicola* em *Crambe abyssinica*

Espécime examinado: em folhas de *Crambe abyssinica* (Brassicaceae); Brasil, Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília; 15 Junho 2012, *leg. g. r.* nascimento, UB (Col. Micol.) 22193.

O fungo foi identificado como *Alternaria*. O espécime estudado apresentou lesões 0,3 (0,4) 0,5 cm circulares, zonadas, marrom- acinzentadas e colônias superficiais, marrons, raras. *Conidióforos* 71 (98) 128×3.5 (5) 6 μm simpodiais, marrons, septados. *Células conidiogênicas* 6 (16) 22×3.5 (5) 6 μm poliblasticas, unicelulares, geniculadas e marrons. *Conídios* 45 (63.5) 124×9 (15.5) 18 μm , obclavados, solitários ou em cadeia, muriformes, rostrados e marrom-claros (**Figura 2**).

Alternaria é um importante gênero de ascomiceto e engloba um grande número de espécies. De acordo com o INDEXFUNGORUM (2013) existem 676 relatos de *Alternaria* no mundo todo.

Várias espécies do gênero causam doenças em plantas daninhas e espécies cultivadas como alho, cebola, tomate e algodão dentre outras várias culturas.

Algumas espécies são alergênicas em humanos e podem causar infecções oportunistas em pele e membranas mucosas, incluindo os olhos e o trato respiratório principalmente em pessoas imunocomprometidas como portadores de HIV manifestando SIDA. Vale ressaltar que nem todas as espécies de *Alternaria* são patogênicas e algumas podem até apresentar potencial como agentes biológicos no controle de espécies invasoras.

Os esporos deste fungo são bem característicos, escuros, muriformes, podendo apresentar-se de forma simples ou podem formar longas cadeias. As colônias geralmente possuem coloração de cor negra ou cinza.

Alternaria brassicicola foi descrita em 1947 e tem como basônimo *Helminthosporium brassicicola* descrito anteriormente 1832.

A chave de identificação utilizada neste trabalho foi a Chave de Ellis (1971) De acordo com SMML (2013) algumas espécies de *Alternaria* já foram descritas em *Crambe abyssinica* em diferentes partes do mundo conforme informação a seguir: *Alternaria brassicae* foi descrita na Austrália, Polônia e Índia; *Alternaria brassicicola* na Polônia e Lousiania (entretanto vale lembrar que no Brasil já existe relato desta espécie no Paraná e Goiás *Alternaria circinas* em Lousiania e *Alternaria tenuis* na Polônia.

Ainda de acordo com o SMML (2013) existe relato de *Alternaria brassicae* na Armênia em *Crambe orientalis* e *Alternaria oleracea* em *Crambe maritima*.

Comparando-se o espécime aqui estudado com as demais espécies de *Alternaria* já relatadas em espécies de *Brassica* o espécime apresentou semelhanças morfométricas que permitiram colocá-lo em *Alternaria brassicicola*, entretanto este é o primeiro relato de *Alternaria brassicicola* no Distrito Federal.

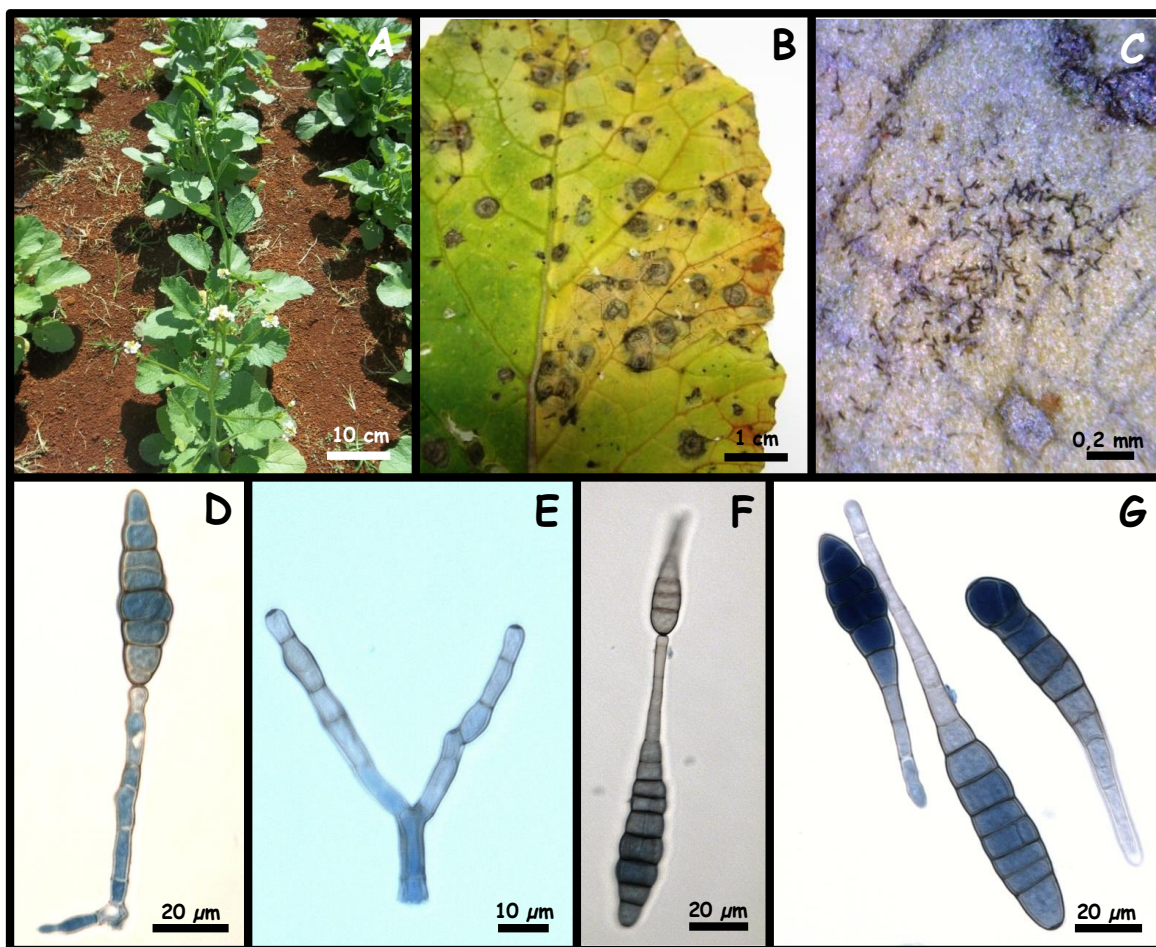


Figura 2 - *Alternaria brassicicola* em folhas de crambe. A- Sintomas no campo. B. Sintomas na folha. C. Detalhe de conídios na folha. D. Conídio em conidióforo. E. Conidióforo. F, G. Conídios. As escalas encontram-se ilustradas nas fotos.

6.3.2. Identificação de *Plasmodiophora brassicicola* em *Crambe abyssinica*

Plantas de crambe foram coletadas na Estação Experimental de Biologia da UnB (**Figura 3**), apresentando redução de crescimento, murcha e morte.

As amostras apresentando pequenas galhas nas raízes foram encaminhadas ao laboratório de fitopatologia para análise. As amostras foram analisadas visualmente ao microscópio ótico para melhor visualização das galhas. Realizou-se lâminas e observações foram feitas em microscopia. O teste de patogenicidade foi realizado utilizando-se galhas trituradas em liquidificador e inoculadas em plantas com idades entre 20 e 40 dias da semeadura.

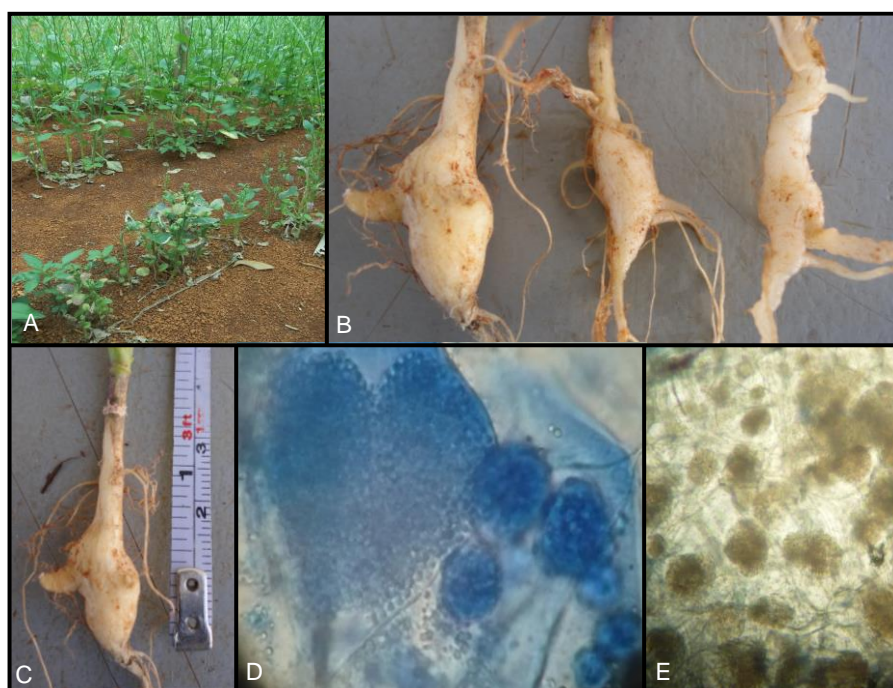


Figura 3. *Plasmidiophora brassicicola* em *Crambe abyssinica*: A) Plantio experimental com sintomas, B e C) Hérnias já estabelecidas, D e E) Fotos sob lente microscópica.

6.4. Resultados e Discussão

Nas galhas observadas neste trabalho constatou-se a presença de *Plasmidiophora brassicae*, confirmando tratar-se da Hérnia das Crucíferas (**Figura 3**).

A galha das crucíferas causada por *P. brassicae* é umas das mais importantes doenças de brássicas (SCHUTA, 2003; TANAKA et al., 2006) e esta doença tem causado prejuízos principalmente aos produtores de repolho, couve-flor e brócolis.

Um dos principais problemas refere-se à rápida disseminação do patógeno e a sua sobrevivência através de estruturas de resistência.

A hérnia das crucíferas é uma doença das brássicas presente em quase todos os países produtores. Ataca praticamente todas as espécies cultivadas de brássicas, causando perdas que podem chegar a 100%. Este patógeno foi inicialmente estudado em 1878 (WORONIN, 1934) e o primeiro relato no Brasil foi realizado, em plantas de couve e repolho (*Brassica oleracea* var. *acephala* e *Brassica oleracea* var. *capitata* respectivamente).

A parte afetada é o sistema radicular e caracteriza-se pela hipertrofia e hiperplasia das células o que acaba resultando na formação de galhas.

O agente causal, *Plasmodiophora brassicae*, corresponde a um organismo semelhante a um fungo, porém classificados no Reino Protozoa e não no Reino Fungi. Algumas características do patógeno incluem o parasitismo obrigatório e a formação de plasmódios. Portanto, para completar seu ciclo de vida, necessita de tecido de raízes vivas da hospedeira (AGRIOS, 1997; CARRIJO; REGO, 2000).

Uma das medidas de controle mais eficazes e econômicas de controlar a doença é através de cultivares resistentes Reis (2009).

PITOL (2010) já havia relatado *Plasmodiophora* sp. Neste trabalho identificou-se *Plasmodiophora brassicae* e este consiste em um primeiro relato deste organismo em crambe no Distrito Federal.

6.5. Conclusões

Neste trabalho identificou-se *Alternaria brassicicola* e *Plasmodiophora brassicae*, ambos consistem em um primeiro relato em crambe no Distrito Federal.

7. CONCLUSÕES FINAIS

Os patógenos consistem um problema na agricultura. Fungos, nematóides, vírus e bactérias podem causar grandes perdas. Algumas espécies como crambe, trigo sarraceno, chia, feijão jacinto, linho e grão de bico foram testadas quanto ao potencial

como hospedeiras de algumas espécies de vírus de plantas: *Groundnut ringspot virus* (GRSV, gênero *Tospovirus*), *Potato virus Y* (PVY, gênero *Potyvirus*) e *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV, gênero *Begomovirus*) constatando-se que:

- Para PVY nenhuma das espécies testadas foi detectada positiva mediante o teste sorológico DOT-ELISA.

- Para GRSV amostras das espécies trigo sarraceno, feijão jacinto, soja preta, lentilha e grão de bico foram positivas mediante DOT-ELISA evidenciando que estas espécies constituem potencial hospedeiras de vírus no campo.

- Para ToCMoV amostras de trigo sarraceno e feijão preto foram positivas.

- As espécies de plantas avaliadas e positivas para GRSV e ToCMoV deverão ser avaliadas futuramente quanto à aspectos de produção mediante infecção viral das espécies virais para as quais elas foram positivas

O crambe é uma importante fonte a ser usada como matéria-prima na produção de biodiesel. Neste trabalho realizou-se a detecção de *Alternaria brassicicola* e *Plasmodiophora brassicae* consistindo estes dois casos em primeiro relato destes patógenos em crambe no Distrito Federal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADAMS, M. J.; KING, A. M. Q. CARSTENS, E. B. *Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology.*
- ADAMS, M.; ZERBINI, F.; FRENCH, R.; RABENSTEIN, F.; STENGER, D.; VALKONEN, J. *Family Potyviridae. Virus taxonomy, 9th report of the International Committee for Taxonomy of Viruses.* San Diego-USA: Elsevier Academic Press, 2011.
- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology.** 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press. 2005. p. 207- 248
- ALBINO, L. F. T.; MARQUES, P. V.; FIALHO, E. T.; FREITAS, A. R. de; BLUME, E. **Trigo - mourisco na alimentação de frango de corte.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 21, n. 5, p. 453-460. 1986.
- ALMEIDA, A. S. **Cultura do trigo sarraceno.** Curitiba: Banco de Desenvolvimento do Paraná, 1977, 19 p. (Versão preliminar para discussão interna).
- ANDRADE, E. C., AMBROZEVICIUS, L. P., CALEGARIO, R. F., FONTES, E. P. B. & ZERBINI, F. M. (2002). *Molecular cloning and characterization of TOMATO CHLOROTIC MOTTLE VIRUS (TCMV), a new tomato-infecting begomovirus.* Virus Rev Res 7, 153–155.
- ANTRUJO, J. O. AZCONA, P. T. GARCIA, et al. *Omega-3 enriched egg production: the effect of α -linolenic x-3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition.* British Poultry Science, vol. 52, no. 6, pp. 750–760, 2011
- AYERZA, R. AND W. COATES. *Omega-3 enriched eggs: the influence of dietary α -linolenic fatty acid source on egg production and composition.* Canadian Journal of Animal Science, vol. 81, no. 3, pp. 355–362, 2000. View at ScopusR. Ayerza and W. Coates, “Effect of dietary α -linolenic
- ASMUS, R. M. F. Antagonismo de algumas espécies vegetais a *Meloidogyne javanica*. 1984. 39p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa
- BRESSON J. L., FLYNN A., HEINONEN M., et al. *Opinion on the safety of Chia seeds (Salvia hispanica L.) and ground whole Chia seeds as a food ingredient.* The European Food Safety Authority Journal, vol. 996, pp. 1–26, 2009.
- BROCH, D. L.; ROSCOE, R. **Fertilidade do solo, adubação e nutrição do crambe.** In: FUNDAÇÃO MS. Tecnologia e produção : crambe 2010. Maracajú: v. 1, p. 22-36, 2010.
- BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C. *The sweetpotato or silverleaf whiteflies: Biotypes of Bemisia tabaci or a species complex.* Annual Review of Entomology, United Statesv. 40, p. 511-534, 1995.

BROWN, J.; FAUQUET, C.; BRIDDON, R.; ZERBINI, F.; MORIONES, E.; NAVASCASTILLO, J. 2011. *Family Geminiviridae*. In: KING AMQ, ADAMS AJ, CARSTENS EB(EDS), L. E. (eds.) Virus taxonomy. 9th report of the international committee on taxonomy of viruses. San Diego: Elsevier Academic Press.

BROWN, J.K.; BIRD, J. *Whitefly-transmitted geminiviruses associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin*. Plant Disease, Saint Paul, v. 76, p. 220-225, 1992.

CAHILL, Joseph P. *Ethnobotany of Chia, Salvia hispanica L. (Lamiaceae)*. Economic Botany, 2003, Volume 57. Edição 4., pp. 604-618

CARLSSON, A. S.; CLAYTON, D.; SALENTIJIN, E. TOONEN, M. **Oil crop platforms for industrial uses**. Outputs from the EPOBIO project. CpIpress. 2007.

CARNEIRO, S. M. T. G. ; ROMANO, E. ; MARIANOWSKI, T.; OLIVEIRA, J. P.; GARBIN, T. H. S.; ARAUJO, P. M. Ocorrência de *Alternaria brassicicola* em crambe (*Crambe abyssinica*) no estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**. v.35. n. 2. p. 154. Jun. 2009.

CORRER, C.J.; CARNEIRO, S. Podridão radicular causada por *Rhizoctonia solani* em crambe. In: XVI Simpósio de Iniciação Científica e I Mostra de trabalhos da pós-graduação. **Anais**. 2008. p. 10.

DOUGHERTY, W. G.; CARRINGTON, J. C.; CARY, S. M.; PARKS, T. D. *Biochemical and mutational analysis of a plant-virus polyprotein cleavage site*. The EMBO Journal, Oxford, v. 7, p. 1281–1287, 1988.

DOYLE J.. *Towards comprehensive phylogeny of legumes: evidence from rbcL and non- molecular data*. In: Herenden PS, Bruneau A(eds) Advances in Legume Systematics **9**. Royal Botanic Gardens, UK, pp 1-20, 2000.

DUKE, J.A. 1978. *The quest for tolerant germplasm*. p. 1–61. In: ASA Special Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. Am. Soc. Agron. Madison, WI.

DYBING, C.D. AND LAY, C. 1981. *Flax Linum usitatissimum*. p. 71–85. In: McClure, T.A. and Lipinsky, E.S. (eds.), CRC handbook of biosolar resources. vol. II. Resource materials. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL

ELLIS, M. B. **Dematiaceous hyphomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 1971. 512p.

EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. Disponível em: <http://www.epamig.br/>. Acesso: nov. 2013

FARIA, J. C.; ZERBINI, F. M. **Família Geminiviridae** - taxonomia, replicação e movimento. Revisão Anual de Patologia de Plantas, v. 8, p. 25-65, 2000.

FAUQUET, C. M.; BRIDDON, R. W.; BROWN, J. K.; MORIONES, E.; STANLEY, J.; ZERBINI, M.; ZHOU, X. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. Archives of Virology, Wien, v. 153, n. 4, p. 783-821, abr. 2008.

JONES, D. R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology**, v. 109, p. 195-219, 2003

GIBBS, A.; OHSHIMA, K. *Potyvirus and digital revolution*. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v. 48, p. 205-223, 2010.

GLASER, L.K. Crambe: **An economic assessment of feasibility of providing multiple-peril crop insurance**. Economic Research Service of the Risk Management Agency. Federal Crop Insurance Corporation. 1996. Disponível em: <<http://www.rma.usda.gov/pilots/feasible/pdf/crambe.pdf>>. Acesso em: 09 nov. 2011.

HEUZÉ V., SAUVANT D., TRAN G., BASTIANELLI D., LEBAS F., 2013. *Lentil (Lens culinaris)*. Feedipedia.org. A programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. Disponível em: <http://www.feedipedia.org/node/284>. Acesso: nov. 2013.

Hill, A. F. 1965. **Botânica Econômica**, plantas úteis y productos vegetales. Ed. Omega. 1-616

LEWIS, G.P. *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew , 577p, 2005.

LUCKOW L. *A phylogenetic analysis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data*. In: Klitgaard BB, Bruneau A (eds) Advances in Legume Systematics 10, High Level Systematics. Royal Botanic Gardens, UK, pp 197-220, 2003.

MACAGNAN, D.; CHAVES, Z. M.; CAFÉ – FILHO, A.C. First report of *Alternaria brassicicola* on *Crambe abyssinica* in Goiás state, Brazil. **Summa Phytopathologica**. v.36. n. 3. p. 260. Jun. 2010.

M. C. PROVANCE. *Genetics of qualitative traits in domesticated chia (Salvia hispanica L.)*. Journal of Heredity, vol. 93, no. 1, pp. 52–55, 2002.

MALHOTRA, R.S., R.P.S. PUNDIR AND A.E. SLINKARD. 1987. *Genetic resources of chickpea*. In: M.C. Saxena and K.B. Singh (ed.), The Chickpea. C.A.B. International Cambrian News Ltd, Aberystwyth, UK, p.67-81.

MARINGONI, A. C. Doenças das crucíferas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Edt.). **Manual de Fitopatologia**. Vol.2. Doenças de plantas cultivadas. São Paulo. Agronômica Ceres. 2005. p.285- 291.

MARTHA, R. T. ARMANDO, A. A. CARLOS, et al. *A dietary pattern including Nopal, Chia seed, soy protein, and oat reduces serum triglycerides and glucose intolerance in patients with metabolic syndrome*. Journal of Nutrition, vol. 142, no. 1, pp. 64–69, 2012.

MENEZES, Luiz Antonio Silva; LEANDRO, Wilson Mozena. **Avaliação de Espécies de Coberturas do Solo**. Pesquisa Agropecuária Tropical (UFG), v. 34, p. 173-180, 2004.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. Resenha energética brasileira. Exercício de 2010. Preliminar. Maio de 2011. Disponível em: <<http://portalpch.com.br/images/stories/pdf/mme50.pdf>>. Acesso em: 10 de ago. 2011.

MUEHLBAUER, F.J. AND K.B. SINGH. 1987. *Genetics of chickpea*. p. 99-125. In: M.C. Saxena and K.B. Singh (eds.), *The Chickpea*. CAB. International, Wallingford, Oxon, OX10 8DE, UK.

MUEHLBAUER, F.J., 1996. *Advances in the production of cool season legumes*. American Journal of Alternative Agriculture 11: 71-76.

MUEHLBAUER, F.J., R.J. REDDEN, A.M. NASSIB, L.D. ROBERTSON AND J.B. SMITHSON. 1988. *Population improvement in pulse crops*.

NASCIMENTO, Gilma Rosa (**Summa Fitopatológica**) 2012

OPLINGER, E. S. *et al.* **Alternative Field Crops Manual: Crambe**. 1991. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/crambe.html>>. Acesso em: 19 mai. 2010.

PACE, T. *Cultura do trigo sarraceno: história, botânica e economia*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Serviço de Informação Agrícola, 1964, 71 p.

PASQUALETTO, A.; LEANDRO, W. M.; BATISTA, R. G. ; BERNON, N.; SCHIRA, G. . **Levantamento da flora emergente de plantas daninhas em sistemas de cobertura de solo**. Pesquisa Agropecuária Tropical (UFG), Goiânia, v. 29, n. 02, p. 127-134, 1999.

PEIRETTI G.; MEINER, G.. *Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (Salvia hispanica L.) seed supplements*. Meat Science, vol. 80, no. 4, pp. 1116–1121, 2008. View at Publisher · View at Google Scholar · View at ScopusE.

PIO-RIBEIRO, G.; ASSIS, F.O.; F. M.; PAZ, C. D.; PIRES, C. R. C. Ocorrência do "Sweet potato feathery mottle virus" em germoplasma de batata-doce no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 458-460, 1993.

PITOL, C.; BROCHI, D. L.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: crambe** 2010. FUNDAÇÃO MS, p. 60, 2010b.

PITOL, C.; ROSCOE, R. **Introdução e melhoramento do crambe no Brasil**. In: FUNDAÇÃO MS. **Tecnologia e produção: crambe** 2010. Maracajú: 2010. p.4-6.

RATIN, O., AND TYERCHA-WOLLMANN, S. 1976. *Allelopathic phenomena in relations between Linum usitatissimum L. and certain perennial grasses (Lolium perenne L. and Phleum pratense L.)*. Contributii Botanice, Gradina Botanica, Univ. Babes-Bolya (1976):197–204. (Abstract only consulted.)

REED, C.F. 1976. *Information summaries on 1000 economic plants*. Typescripts submitted to the USDA.

REIS, E. M.; LEITES, A.; FORCELINI, C. A. Relações entre intensidade da doença, refletância da radiação solar e rendimento de grãos no patossistema 62 ferrugem da folha de trigo Embrapa 16. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31. n. 5. p. 447- 454. 2006.

ROJAS, M. R.; HAGEN, C.; LUCAS, W. J.; GILBERTSON, R. L. *Exploiting chinks in the plant's armor: evolution and emergence of geminiviruses*. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v. 43, p. 361-394, 2005.

ROSCOE, R.; DELMONTES, A. M. A. **Crambe é nova opção para biodiesel**. Agrianual 2009. São Paulo: Instituto FNP, 2008. p. 40-41.

ROSCOE, R.; PITOL, C.; BROCH, D. L. **Necessidades climáticas e ciclo cultural**. In: FUNDAÇÃO MS. Tecnologia e produção: crambe 2010. Maracajú: FUNDAÇÃO MS, p. 07-09, 2010.

SANTOS, C. D. G.; ÁVILA, A. C.; RESENDE, R. O. **Estudo da interação de um begomovírus isolado de tomateiro com a mosca branca vetora**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p.664-673, 2003.

SANTOS, C.D.G.; D'ÁVILA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K.; RESENDE, R.O. **Espécies vegetais hospedeiras de begomovírus isolados de tomateiro em Goiás e no Distrito Federal**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 29, n.4, p. 450-455, 2004.

SCHUTA, L. R. **Boro, nitrogênio, concentração de inóculo e pH no controle da *Plasmiodiophora brassicae***. Curitiba, 2003. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná, 2003

SHUKLA, D. D.; LAURICELLA, R.; WARD, C. W.; BRUNT, A. A. **The Potyviridae**. Wallingford, UK: CAB International, p. 516, 1994

SILVA, D.B.; GUERRA, A.F.; SILVA, A.C.; PÓVOA, J.S.R. **Avaliação de genótipos de mourisco na região do Cerrado**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002.

SINGH, K.B. 1987. *Chickpea breeding*. In: M.C. Saxena and K.B. Singh (eds.). The Chickpea. CAB International, UK, p.127-162

SINGH, K.B., R.S. MALHOTRA, M.H. HALILA, E.J. KNIGHTS AND M.M. VERMA. *Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses*. In: F.J. Muehlbauer and W.J. Kaiser (eds.), Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherland, p. 572-591. 1988

SINGH, P. AND M.L. PANDITA. 1980. *Effect of spacing, plants per hill and training on growth and yield of sem (Dolichos lablab L.) hyacinth beans*. Indian J. Horticulture 37(4):388-391.

SMITHSON, J.B., J.A. THOMPSON AND R.J. SUMMERFIELD. 1985. *Chickpea (Cicer arietinum L.)*. In: R.J. Summerfield and E.H. Roberts (eds.), Grain Legume Crops. Collins, London, UK, p. 312-390.

TANAKA, S.; MIDO, H.; ITO, S. Colonization by two isolates of *Plasmodiophora brassicae* with differing pathogenicity on a clubroot-resistant cultivar of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis*). **Journal of General Plant Pathology**, v.72, n.4, p. 205-209, 2006.

TOMBETTA, E. E.; CUNIBERTI, M. B. Trigo Sarraceno, alforfon trigo Informe técnico n. 106 negro: características generales y calidad industrial. Argentina:Secretaría de Agricultura y Ganadería, 1994. 15 p. (Informe técnico n. 106.)

TOMBETTA, E. E.; CUNIBERTI, M. B. **Trigo Sarraceno, alforfon trigo Informe técnico n. 106 negro: características generales y calidad industrial**. Argentina:

Secretaría de Agricultura y Ganadería, 1994. 15 p. (Informe técnico n. 106.)

TOR AGBIDYE, Y.; ROBINSON, K. L.; CHEEKE, P. R.; KAROW R. S.; PATTON, N. M. **Nutritional evaluation of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) in diets of weanling rabbits**. Journal of Applied Rabbit Research, Corvallis, v. 13,n. 3-4, p. 210-214, 1990.

TRUCOM, C. **A importância da linhaça na saúde**. São Paulo: Alaúde, 2006, 152p.

VALADARES FILHO, SEBASTIÃO DE CAMPOS. Nutrição, **Avaliação de Alimentos e Tabelas de Composição de Alimentos para Bovinos**. XXXVII Reunião Anual da SBZ, 37, Viçosa, 2000, Anais. Viçosa: 2000. P.

VAN DER MAESEN, L.J.G. 1987. *Cicer L. Origin, history and taxonomy of chickpea*. In: M.C. Saxena and K.B. Singh (ed.), The Chickpea. C.A.b. International Cambrian News Ltd, Aberystwyth. p.11-34.

VILELA, H. **Escolha de Espécies Forrageiras**. Formação de Pastagens. CPT. Viçosa. 98p. 1998.

VILELA, H. **Forragicultura**. Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG. 68p. 1977.

WANG, Y.P.; TANG, J.S.; CHU, C. Q.; TIAN, J. A preliminary study on the introduction and cultivation of *Crambe abyssinica* in China, an oil plant for industrial uses. **Industrial Crops and Products**. v. 12. p. 47- 52. 2000.

WARWICK, S. I.; GUGEL, R. K. **Genetic variation in the *Crambe abyssinica*-*C. hispanica*-*C. glabrata* complex**. Genetic Resources and Crop Evolution , v. 50, p. 291-305, 2003.

WOJCIECHOWSKI, M.F. **A phylogeny of Legumes (*Leguminosae*) based on analysis of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family**. American Journal of Botany. v. 91, n. 11, p.1846-1862, 2004.

WORONIN, M. S. *Plasmodiophora brassicae* the cause of cabbage hernia. New York: American Phytopathological Society, 1934. 32 p.

REFERENCIAS

PEREIRA, Everaldo Anastácio (2013)

Sittes consultados

<http://www.chiatotal.com/pdf/Monografia.pdf>

<http://businessindus.com/salvia-hispanica/133>

<http://gfcelebration.com/tag/salvia-hispanica/>

<http://www.abc.net.au/site-archive/rural/news/content/201303/s3713275.htm>

http://www.chiacorp.com/esp_home.htm

ANEXOS

1. Resumo do primeiro relato apresentado no 45° congresso Brasileiro de Fitopatologia em Manaus.



Tropical Plant Pathology 38 (Suplemento), agosto
2012

45° Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Manaus, AM Copyright the
Brazilian Phytopathological Society <http://www.sbfito.com>

ETIOLOGIA

771

Primeiro relato de ocorrência de *Alternaria* sp. em Crambe no Distrito Federal.

Nascimento, G.R.¹, Pereira, E.A.¹, Souza, E.S.C.¹, Soares, W.R.O.¹, Inácio, C.A.²., Pereira-Carvalho, R. C.¹

Universidade de Brasília, Brasília, DF. ²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. E-mail: gilmarosanascimento@hotmail.com

A necessidade por matéria prima não comestível para a produção do biocombustível vem aumentando cada vez mais. O crambe (*Crambe abyssinica*, Brassicaceae), destaca-se por sua rusticidade, precocidade, sobrevivência ao estresse hídrico, fácil cultivo e baixo custo de produção. O fruto seco contém aproximadamente 38% de óleo, e ácido erúico utilizado para a produção de lubrificantes. Durante o primeiro semestre de 2012, foram observadas lesões foliares em plantio localizado na Estação Experimental de Biologia da Universidade de Brasília e amostras foram levadas para o laboratório de Fitopatologia da UnB. Este trabalho teve como objetivos identificar o agente associado à estas lesões, sua caracterização e ilustração. Os sintomas eram: lesões necróticas zonadas, até 10 mm diam., marrons-acinzentadas, adaxiais. A partir destas lesões, foram efetuados isolamentos em BDA (Batata-dextrose-ágar) e confeccionadas lâminas semipermanentes em corante azul de algodão/glicerol para fotodocumentação em microscopia de luz. O fungo identificado como *Alternaria* mostrou colônias superficiais, marrons, raras. Conidióforos curtos, marrons, septados. Conídios 32 (45.5) 88.5 × 6.5 (11) 13 µm, obclavados, solitários ou em cadeia, muriformes, rostrados e marrom-claros. Resultados preliminares indicam que o fungo difere de *A. brassicicola* já reportado no mesmo hospedeiro no Estado do Paraná e novas comparações estão sendo efetuadas. Entretanto este é o primeiro registro de ocorrência desta doença no Distrito Federal.

Apoio: UnB, UFRRJ

2.

**XXXVI CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA****Instituto Biológico - São Paulo, SP - 19 a 21 de Fevereiro de 2013**

OCORRÊNCIA DE *Plasmodiophora brassicae* EM CRAMBE NO DISTRITO FEDERAL / Occurrence of *Plasmodiophora brassicae* in Crambe in Federal District, Brazil. G.R. NASCIMENTO¹; C.H. UESUGI¹; E.A. PEREIRA²; R.C. PEREIRA-CARVALHO¹, E. MARQUES¹. ¹Departamento de Fitopatologia/ IB, ²Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB, Campus Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília, DF. E-mail: gilmarosanascimento@hotmail.com.

A necessidade por matéria prima não comestível para a produção de biocombustíveis tem aumentado nos últimos anos. O crambe (*Crambe abyssinica* -Brassicaceae), destaca-se por sua rusticidade, tolerância ao estresse hídrico, facilidade de cultivo e baixo custo de produção. A planta apresenta ciclo de aproximadamente quatro meses. A semente seca contém de 26 a 38% de óleo, e por ser uma cultura mecanizável pode ser produzida em grande escala, sem grandes investimentos. Durante o primeiro semestre de 2012, foram observadas em experimento realizado na Estação Experimental de Biologia da UnB, plantas com redução de crescimento, murcha e morte que apresentavam pequenas galhas nas raízes. Desse plantio foram coletadas amostras que foram analisadas, visualmente e ao microscópio ótico no Laboratório de Fitopatologia da UnB. Nas galhas foram constatadas a presença de *Plasmodiophora brassicae*, confirmando tratar-se da Hérnia das Crucíferas. O teste de patogenicidade foi realizado utilizando-se galhas trituradas em liquidificador e inoculadas em plantas com idades entre 20 e 40 dias da semeadura. Este é o primeiro relato de Hérnia das Crucíferas em *C. abyssinica* no Brasil.